ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

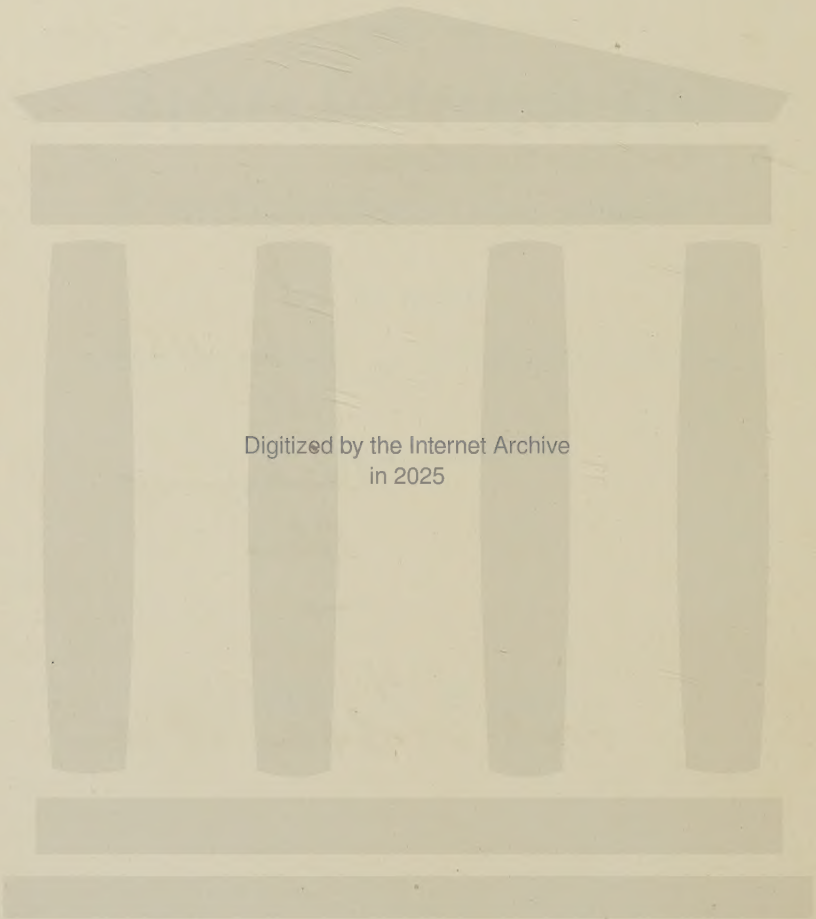
Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. CIUCA et M. CIUCA

Tome **8** — 1935

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VIe)


Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/romanian-archives-of-microbiology-and-immunology_1935-03_8_1

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 8 *N° 1* *MARS 1935*

MÉMOIRES ORIGINAUX

L'HISTOPATHOLOGIE DU SYSTÈME NERVEUX DANS LE COMA PALUDIQUE

par

A. SLATINEANU, S. NICOLAU et G. BALMUS

(INSTITUT PASTEUR DE PARIS ET HÔPITAL IZOLAREA DE JASSY [ROUMANIE])

Les recherches classiques de *Laveran*, celles de l'école italienne *(Marchiafava* et *Celli, Bignani, Bastianelli, Guarnieri, Pietro Canalis)* ont montré que l'infection malarique pernicieuse peut déterminer chez l'homme des altérations dans l'encéphale. Les constatations de ces auteurs peuvent être résumées comme il suit : processus de lepto-méningite, plus ou moins intense selon le cas ; dilatation vasculaire, engorgement des capillaires par des parasites, surtout dans la région corticale, hémorragies punctiformes à la suite des altérations de l'endothélium vasculaire, agglomération et agglutination des hématies parasitées à l'intérieur des vaisseaux cérébraux, dégénérescence plus ou moins accentuée du caryoplasme de certains neurones.

Une autre série de chercheurs, parmi lesquels nous pouvons

citer *Toti* et *Angelini* (1892), *Triantaphylides* (1893), *Bruns* et *Stolting* (1900), *Dana* et *Schlap* (1900), *Bregman* (1901), *Spiller* (1901), *Nĕspor* (1905), ont décrit des cas de paludisme présentant la symptomatologie des scléroses multiples ou de la pseudosclérose.

Enfin, *Brault* et *Jourdan, Campbell-Highet* (1898), *C.-T. Ewald* (1900), *Baumstarck* (1900), *D.-C. Rees* (1900), *Deutmann* (1904), *Van Driels* (1914), *Haughton Heard* (1915), décrivent des polynévrites, des paralysies de type Landry, paralysies spinales spastiques, parésies, ataxies, toutes « d'origine paludéenne ». S'agissait-il, dans les observations publiées par ces auteurs, de complications nerveuses dues à l'infection malarique, ou d'une coexistence de paludisme avec une maladie quelconque du système nerveux ? Des études histopathologiques minutieuses étaient nécessaires pour élucider ce problème. Depuis 1917, plusieurs auteurs se sont appliqués à cette tâche. Citons *H. Dürck* (1917), *G. Marinesco* (1920), *Obregia* et *Popeia* (1924), *Von Engel* (1925), *J.-G. Thomson* et *S. Annecke* (1926), *R. Reitano* (1927), *O. Urchs* (1927), *W. Warasi* (1927), *G.-G. Neprajachin* (1927) et *B.-A. Photakis* (1929). C'est au premier de ces auteurs, à *Dürck,* qu'on doit la majeure partie de nos connaissances actuelles sur les lésions du système nerveux central dans la forme pernicieuse du paludisme. Analysons dans l'ordre chronologique les travaux de ces derniers auteurs, travaux qui sont d'une importance particulière à ce sujet.

Dürck, en sa qualité de médecin d'armée, a eu l'occasion d'étudier un grand nombre de malades de malaria pernicieuse, dont il a pratiqué l'autopsie lui-même. Ces cas à terminaison fatale avaient présenté des symptômes nerveux très sévères : presque tous lui étaient conduits étant dans le coma ; d'autres enfin, avant d'entrer dans le coma, étaient pris soudainement, en pleine santé, de troubles dont l'origine infectieuse ou paludique était difficile à établir : l'autopsie éclairait toujours la cause de la mort.

L'auteur trouve, dans tous ces cas, de la leptoméningite purulente. Il constate une coloration gris ardoise ou même gris noir de la substance corticale de l'encéphale et des hémorragies punctiformes dans la partie sous-corticale du parenchyme cérébral. Cette dernière constatation a été faite dans 5 cas sur 18. De plus, il distingue deux sortes de lésions produites par l'infection dans le névraxe :

1° Altérations produites par l'action mécanique des parasites

dans les vaisseaux ; présence de masses de pigment paludéen ; des cellules endothéliales détachées sous l'action *toxique* de l'infection ; foyers d'hémorragies, ou foyers de ramollissement occasionnés par ces hémorragies.

2° Lésions de nature inflammatoire, dues à l'action *toxique* des parasites, infiltration méningée, prolifération des endothéliums vasculaires, processus de périvascularite constitués surtout par des cellules gliales, et enfin formation de nodules de prolifération gliale prenant l'aspect de nids de cellules et pouvant arriver à de grandes dimensions. Ces deux groupes de lésions peuvent coexister, avec prépondérance de l'un ou de l'autre.

En plus l'auteur remarque :

a) L'accumulation des plasmodies dans de petits vaisseaux ; la possibilité, pour le parasite, de continuer son développement même après la mort du malade, pendant un certain temps ; présence de pigment dans des capillaires, et des hémorragies diapédétiques; exceptionnellement, le parasite pourrait traverser les parois vasculaires lésées et se retrouverait dans le tissu périvasculaire ;

b) Altérations intenses, arrivant jusqu'à la pycnose nucléaire des cellules endothéliales des capillaires, sous l'influence d'une *toxine* paludique ; embolies provoquées par de telles cellules lésées et par des masses de pigment, mais sans infarctus consécutif ;

c) Infiltration des méninges et du tissu mésodermique de l'encéphale ; aspect purulent des méninges, infiltration lymphocytaire par ailleurs dans le parenchyme ;

d) Prolifération gliale, constante, dans presque tous les cas. N'étant pas spécifique au paludisme (constatée dans la syphilis et autres infections de l'encéphale), elle serait l'expression de la défense du tissu contre l'envahissement des plasmodes. Il existe parfois des foyers étendus d'amas compacts de cellules gliales, donnant même macroscopiquement l'impression de zones de ramollissement ;

e) Prolifération de cellules satellites autour des cellules nerveuses ganglionnaires de l'écorce, simulant même la neuronophagie ;

f) Pour *Dürck,* la lésion la plus importante dans l'encéphale des individus morts en coma paludique est le nodule glial de la substance blanche, située d'habitude dans les couches profondes de l'écorce. Ces nodules, disposés toujours en rapport avec des capillaires remplis de plasmodies, ont une structure radiaire ;

les cellules gliales qui les constituent se disposent en forme de fleurs de camomille. Dans les cas de survie du malade, ils détermineraient souvent des complexus cliniques neuropathologiques dont le plus important serait la sclérose multiple. *Dürck* propose de les nommer « des granulomes paludiques ». Ajoutons que ces nodules avaient déjà été vus, en 1914, par *Margulis*.

Retenons du travail de *Dürck*, travail fondamental dans l'étude qui nous préoccupe, les éléments suivants : présence de parasites exceptionnellement dans les hématies se trouvant dans le tissu périvasculaire ; l'hypothèse d'une toxine paludique qui provoquerait certaines lésions, et les granulomes paludiques, fait fondamental pour lui.

G. Marinesco (1920) prétend que l'encéphalite épidémique à forme myoclonique pourrait être simulée par le paludisme à forme pernicieuse. L'auteur étudie l'anatomopathologie microscopique d'un cas mortel; il décrit l'aspect grisâtre de l'écorce, de la substance grise médullaire, et le piqueté hémorragique. Hémorragies dans la corne d'Ammon, hématozoaires dans les vaisseaux cérébraux; prolifération gliale dans la substance grise, ainsi que dans la substance blanche, avec formation dans ce dernier endroit de nodules de deux sortes :

a) Nodules constitués par des cellules névrogliques, qui ont une structure lâche, et *b)* nodules en rapport immédiat avec les vaisseaux et qui sont constitués par des lymphocytes, monocytes, fibroblastes, et quelques rares cellules plasmatiques ; à la périphérie seulement de ces derniers nodules, on voit des cellules gliales hypertrophiées, mais non multipliées. Dans le cervelet, congestion capillaire seulement et nombre très limité de parasites dans les vaisseaux. Les ganglions spinaux ne montrent presque rien de particulier.

Marinesco propose d'appeler les nodules décrits des *nodules malariques*. Leur nature résiderait dans une irritation provoquée par la présence des parasites ou de leur toxine.

Deux autres auteurs roumains, *Obregia* et *Popeia* (1924), relatent des cas de psychose palustre. Dans un premier cas, il s'agissait d'une vieille femme qui présentait une confusion mentale dépressive avec rares périodes d'excitation. L'évolution s'était aggravée sans qu'on puisse penser au paludisme, jusqu'à l'examen anatomopathologique.

Dans le deuxième cas, il s'agissait d'un accès de manie qui serait demeuré à cet état sans un traitement arsenical pour la syphilis concomitante dont était affectée la malade ; ce traite-

ment aggrava le paludisme et l'état de la malade. Les troubles mentaux, dans les deux cas, se sont montrés quelques mois avant la mort.

L'examen macroscopique de l'encéphale a mis en évidence une coloration ardoise prononcée. Absence d'hémorragies.

Au microscope, la pie-mère s'est montrée très peu infiltrée ; présence de nombreux parasites dans les vaisseaux, infiltration légère des parois vasculaires de l'encéphale, à lymphocytes, gros mononucléaires et plasmocytes ; rares hémorragies. Les nodules malariques ont été rencontrés presque exclusivement dans la substance grise (à l'encontre de *Dürck* et *Marinesco,* qui les trouvent seulement dans la substance blanche). Altération des neurones encéphaliques : noyau globuleux, excentrique ; dans le cytoplasme, la substance chromatique est irrégulièrement dispersée, agglomérée en gros blocs, tandis que dans certaines cellules elle est pulvérisée ou presque absente (chromatolyse).

D'autrs cellules nerveuses, enfin, ont un protoplasma vacuolaire. Les cellules satellites sont un peu plus nombreuses : prolifération gliale.

Von Engel (1925) étudie à son tour un cas de malaria perniciosa, mort à la suite d'une première injection intraveineuse de quinine. A l'autopsie, le cerveau avait une coloration normale ; les ventricules non distendus ; la substance cérébrale bien pâle. Dans ce cas, le microscope a mis en évidence, dans l'encéphale, peu de pigment. Aucune lésion dans les méninges, ou dans le parenchyme cérébral.

Un travail très documenté sur les altérations nerveuses dans le paludisme à *plasmodium falciparum* est celui de *J.-G. Thomson* et *S. Annecke* (1926). Disposant d'un riche matériel, ces auteurs ont étudié à fond le système nerveux central des individus ayant succombé à cette maladie.

L'ensemble de leurs constatations peut se résumer comme il suit :

Macroscopiquement, les sections du cerveau montrent la couleur gris foncé due à la présence des parasites pigmentés ; œdème des méninges; hémorragies punctiformes visibles à l'œil nu dans la substance blanche.

Au microscope, on constate la présence d'une infiltration des méninges à lymphocytes (1) et rares polynucléaires. Dans cer-

(1) Monier-Vinard, Paisseau et Lemaire ont décrit, dans le liquide céphalo-rachidien, une réaction lymphocytaire. (*Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôpit. Paris,* 1916, t. XI, p. 1607.)

tains cas, infiltration diffuse à petites cellules dans le tissu sous-arachnoïdien et périvasculaire. Cette méningite avait été décrite par *Laveran* et confirmée par *Dürck*. Dans la zone corticale et sous-corticale, *Thomson* et *Annecke* trouvent un blocage plus ou moins complet des capillaires, par des globules rouges parasités ; le corollaire de ce blocage serait la stase et l'hémorragie punctiforme déjà vue par d'autres auteurs. Les cellules endothéliales des vaisseaux cérébraux deviennent vacuolées, gonflées et témoignent d'une activité phagocytaire nette : on trouve à leur intérieur une substance particulière, de nature graisseuse ou lipoïdique. Détachés des parois des vaisseaux, ces endothéliums dégénérés peuvent circuler dans le sang périphérique et déterminer de petites thromboses. Des cellules de l'adventice ayant pénétré dans le parenchyme cérébral apparaissent parfois dégénérées, pycnosées. Autour des vaisseaux, comme *Lafora* l'avait déjà signalé, on trouve une infiltration lymphocytaire et plasmatique *(Cerletti)*.

On trouve également des formes de dégénérescence variées des neurones, constituées par de la chromatolyse, vacuolisation cytoplasmique, signalées déjà par *Lafora* en 1912, et par *Dürck* en 1926. Dans les hématies des petites hémorragies intraparenchymateuses, on constate rarement des parasites, quoique les capillaires du voisinage en soient bourrés. *Thomson* et *Annecke* trouvent, eux aussi, des nodules paludiques (*Margulis, Dürck, Marinesco, Obregia* et *Popeia*) ; sur 12 cas étudiés spécialement de ce point de vue, ont trouvé 3 fois les nodules dans la zone sous-corticale de l'encéphale. Cette lésion particulière serait liée étroitement à des hémorragies punctiformes. Le nodule se constituerait autour d'un capillaire contenant des parasites et qui serait circonscrit par une zone de nécrose périvasculaire ; les cellules gliales proliférées s'ajoutent autour de ces processus et le tout constitue le nodule paludique.

Ces nodules auraient, d'après *Spielmayer*, la particularité (qui les distingue des nodules rencontrés dans le typhus exanthématique) de contenir au centre une zone de nécrose périvasculaire et une symétrie radiale dans la disposition des cellules gliales, seuls éléments cellulaires qui entreraient dans leur formation.

Ajoutons que des nodules semblables ont été trouvés également dans le cerveau des paludiques par *Fränkel* (1917), par *Osterlin* (1920), par *Freibel* (1924) et par *Weingartner*. *Seyfarth* (1926) insiste sur les états de scléroses multiples produits par ces nodules.

D'après *Dürck* (1925), des nodules existeraient aussi indépendamment des hémorragies, et dans ces cas ils seraient dus à l'action d'une toxine paludique. Mais ne peut-on pas supposer que, sur certaines coupes, le nodule coupé par des tranches qui n'empiètent pas sur son diamètre central maximum ne renferme pas le vaisseau à paroi nécrosée, seulement parce que la coupe n'intéresse pas le centre du nodule ? Quoi qu'il en soit, constatons qu'un grand nombre d'auteurs ont trouvé ces nodules qui, pourtant, ne sont pas constants dans le cerveau des individus morts de paludisme à forme pernicieuse.

G.-G. Neprajachin (1927) s'élève contre la spécificité accordée par les auteurs allemands au nodule paludique. De nombreuses observations et recherches ont conduit *Neprajachin* à affirmer que ces prolifération et disposition nodulaire des éléments microgliques se rencontrent dans une série de maladies. D'après lui, la prolifération gliale nodulaire périvasculaire rencontrée par divers auteurs dans la fièvre typhoïde, typhus pétéchial, chorée aiguë, dysenterie, encéphalite épidémique, anémie pernicieuse, leucémie, septicémie, etc., analogue à celle considérée comme l'apanage du paludisme, enlève au « granulome malarique » des Allemands tout caractère spécifique. Ajoutons que *Spielmayer* et *Schroder* ont décrit également des nodules à cellules gliales dans le névraxe des cas humains de scorbut et d'anémie pernicieuse. *Nicolau* et *Galloway* ont décrit de ces nodules volumineux dans le cerveau des singes *(mac. rhesus)* morts d'encéphalomyélite enzootique (maladie de Borna) expérimentale : *Nicolau,* encore, avec *Bratianu* et *Lhombart,* ont étudié ces nodules au cours de leurs recherches sur la microglie dans le névraxe d'animaux d'expérience infectés avec le virus de la maladie de Borna. Ainsi, la non-spécificité du nodule malarique est pleinement démontrée. Du même avis est aussi *Reitano* (1927). Cet auteur étudie le cerveau et les organes d'un cas mortel de paludisme. Il confirme les constatations de ses prédécesseurs. La description microscopique de l'auteur italien s'écarte un peu des descriptions classiques ; cela est dû probablement à la syphilis concomitante, dont son malade avait été affligé.

Un auteur qui nie l'origine toxique des altérations névraxiques dans le paludisme pernicieux est *Warasi* (1927), qui relate l'étude de 5 cas de mort, non compliquée par d'autres infections. Il décrit les lésions vasculaires du cerveau, la prolifération gliale péricapillaire, la présence des hémorragies et répète ce qu'on avait dit, que les hématies extravasculaires des hémorragies ne sont

pas parasitées, tandis que celles intravasculaires le sont souvent. Il envisage la possibilité d'embolies capillaires parasitaires. L'auteur signale une dégénérescence granulaire du protoplasma des neurones corticaux et des cellules nerveuses des noyaux gris et de la moelle.

O. Urchs (1927) admet que les lésions cérébrales produites par la malaria sont dues à la fois à l'action mécanique et toxique, avec prépondérance des lésions d'encéphalite toxique. L'auteur admet également une « *certaine affinité de la malaria pour le système nerveux central* ». *Urchs* est impressionné par la statistique de *J.-Marc Farlane Winfield,* quant à l'origine paludéenne de l'herpès Zoster, et admet en partie les conclusions de cet auteur américain. Or, aujourd'hui, on sait que le paludisme peut être une cause adjuvante qui détermine l'éclosion du Zona, au même titre que l'arsenic ou même le traumatisme.

Citons enfin un dernier travail, celui de *B.-A. Photakis* (1929), qui soutient également que la symptomatologie de la malaria nerveuse, ainsi que les altérations histopathologiques, sont dues à la fois aux facteurs mécaniques (hémorragies, œdème, embolies), ainsi qu'à un principe toxique agissant sur les tissus nerveux.

⁂

En résumé, les auteurs cités plus haut ont étudié la symptomatologie de la malaria tropique à forme nerveuse, ainsi que les altérations *névraxiques.* Ces dernières, caractérisées par l'ensemble d'altérations de méningo-encéphalite chronique, très variable comme intensité de cas à cas, aurait comme manifestation constante la présence de nodules (granulomes). De rares auteurs ont signalé des altérations des neurones allant jusqu'à la neuronécrobiose avec neuronophagie.

Il est curieux de constater que *le système nerveux périphérique* n'a pas été encore étudié, malgré l'abondance des travaux publiés sur la forme nerveuse de malaria tropique. C'est ce que nous avons essayé de faire dans ce qui suit :

OBSERVATION. — Le malade A. C..., jardinier, entre à l'hôpital Izolarea (Jassy, Roumanie) le 21 septembre, avec frissons, température élevée.

Dans ses antécédents personnels, on trouve le paludisme, le choléra, la rougeole, le typhus exanthématique, la fièvre récurrente.

La maladie actuelle a débuté il y a 7 jours, avec céphalalgies, frissons, douleurs généralisées, transpiration. Le malade est pâle, état général bon. Rien de particulier, sauf la rate augmentée de volume, ainsi que le foie à

un moindre degré. Dans le sang périphérique on trouve, le 21 septembre, des gamètes de *plasmodium falciparum*. Le lendemain, nombreux trophozoïdes et gamètes.

Absence d'albumine dans l'urine; dans le sédiment, rares polynucléaires qui disparaissent au bout de 2 jours.

Réaction de Bordet-Wassermann dans le sang, négative. On administre une médication au « plasmochin » (6 granules par jour ; un granule de plasmochin renferme 0,01 gr. de plasmochin et 0,125 de quinine).

Les parasites disparaissent du sang périphérique et le malade exige de quitter l'hôpital le 29 septembre, en état de bonne santé apparente.

Le 3 novembre, c'est-à-dire 35 jours plus tard, on le rapporte dans le coma. D'après l'entourage, la maladie date de trois jours ; elle avait débuté par épistaxis, céphalée, suivies le jour même par l'état comateux.

Le malade a la respiration de Cheynes-Stokes et, à des intervalles de 10 minutes environ, des contractures et des convulsions.

La rate est percutable, le foie augmenté de volume.

Dans le sang périphérique, très nombreux trophozoïdes et gamètes, le nombre d'hématies parasitées l'emportant sur celui des globules rouges normaux.

Dans le liquide céphalo-rachidien, 239 éléments par millimètre cube, la grande majorité représentée par des polynucléaires ; réaction de Nonne-Appel, négative.

Le malade succombe 10 heures après son admission à l'hôpital, malgré le traitement d'urgence institué.

A l'autopsie, on constate les aspects caractéristiques connus dans la forme tropique du paludisme.

On prélève, pour coupes : le système nerveux central, un bon nombre de ganglions spinaux, le pneumogastrique, avec le ganglion plexiforme, un fragment de sciatique, etc...

L'étude microscopique de ces tissus donne les résultats suivants (1) :

SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

Cerveau. — *Ecorce temporale.* — Les méninges apparaissent frappées d'un double processus : une infiltration chronique à lymphocytes, rares macrophages et cellules plasmatiques, éléments parsemés parmi un grand nombre de cellules conjonctives. C'est probablement le processus méningitique produit par une poussée antérieure de paludisme, processus en voie de résorption. Superposé à ce tableau chronique, on voit un processus aigu, traduit par la présence de nombreux polynucléaires et d'un œdème intense. Dans les vaisseaux méningés, dans certaines cellules endothéliales, ainsi que dans des cellules polynucléaires,

(1) Nous remercions M^lle^ N. Lavrinenko pour la contribution technique qu'elle nous a donnée.

on voit du pigment noir, pigment paludéen ; ce pigment peut se trouver également dans des cellules méningées, dans le tissu conjonctif périvasculaire, ainsi qu'à l'état libre (fig. 1). Les monocytes intravasculaires en contiennent aussi. Dans la lumière des vaisseaux, il y a des hématies parasitées. Les neu-

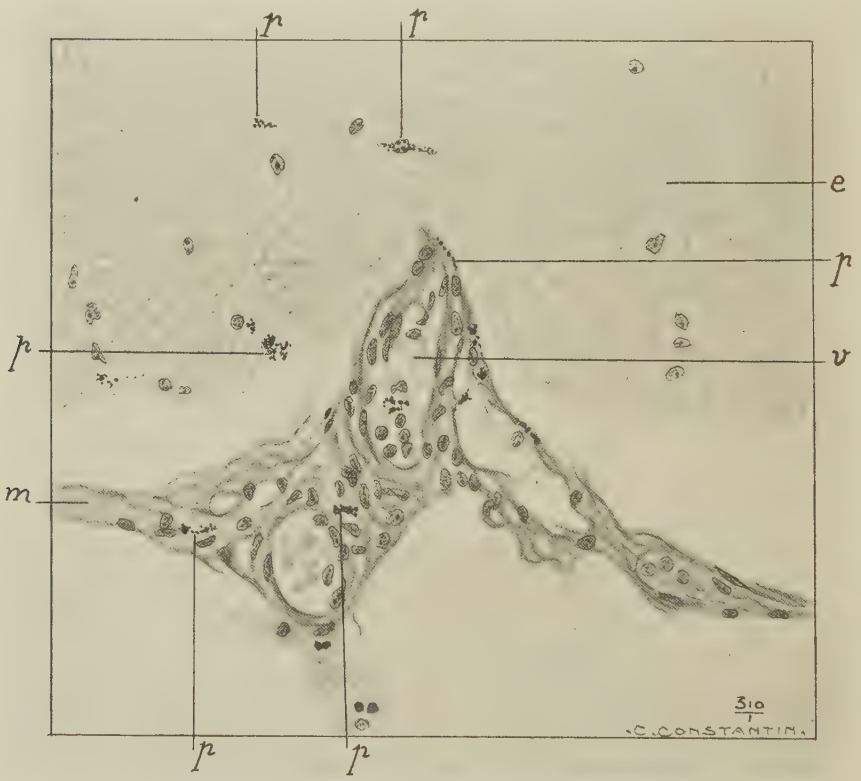


FIG. 1. — *Cerveau* : *méninges* au niveau de l'écorce temporale; *m*, méninges; *v*, vaisseau; *p*, pigment paludéen; *e*, parenchyme cérébral.

rones de la substance grise apparaissent à l'état normal, à ceci près qu'un certain nombre renferment dans le cytoplasme une quantité remarquable de pigment brun (1). La structure de certaines cellules pyramidales est complètement masquée par la

(1) Nous reviendrons plus loin sur l'étude de ce pigment qui n'est pas mélanique.

présence de ce pigment. Dans plusieurs fragments d'écorce temporale, que nous avons étudiés, il nous a semblé distinguer un grand nombre de capillaires de néoformation. Presque toutes les hématies contenues dans certains de ces capillaires sont parasitées (fig. 2); ébauches de manchons périvasculaires, à éléments

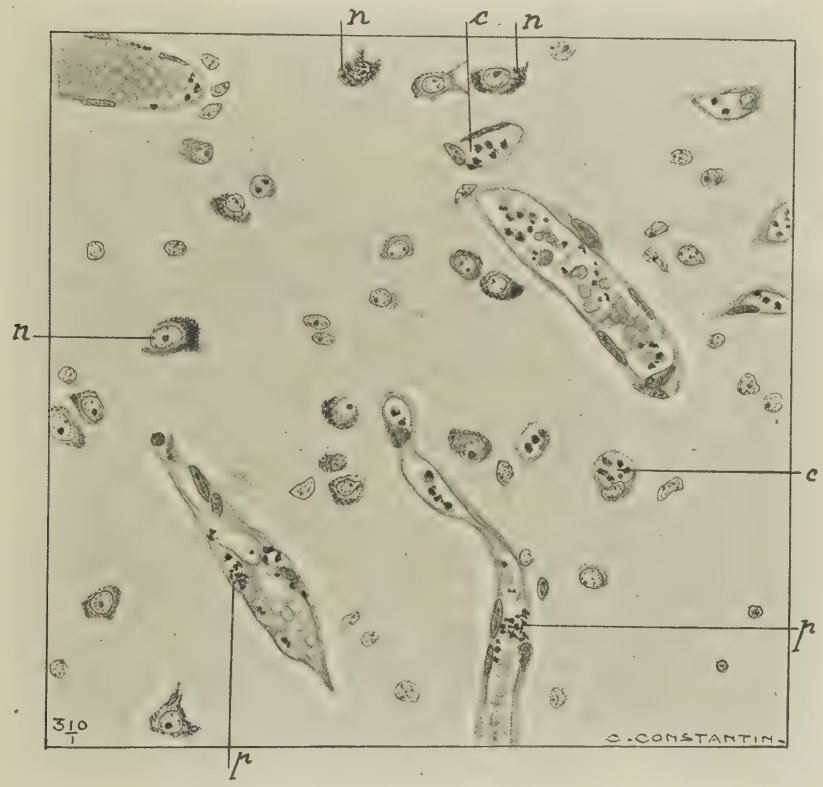


Fig. 2. — *Cerveau*.; *écorce* : *n*, neurone contenant du pigment brun dans le cytoplasme; *c*, capillaires renfermant des hématies parasitées; *p*, pigment paludéen.

exclusivement mononucléaires. Autour de quelques vaisseaux d'un certain calibre, on voit de l'extravasat sanguin, constitué par des hématies non parasitées. Il est intéressant de constater que même autour des vaisseaux bourrés d'hématies parasitées, les globules rouges de l'extravasat sont dépourvus de plasmodes.

Dans l'interprétation de ce phénomène, nous sommes de l'avis de *W. Warasi*, qui suppose que le manque d'élasticité des hématies parasitées empêche ces cellules de sortir des vaisseaux par l'interstice des parois vasculaires. On trouve du pigment paludéen dans l'endothélium vasculaire de cette région de l'écorce,

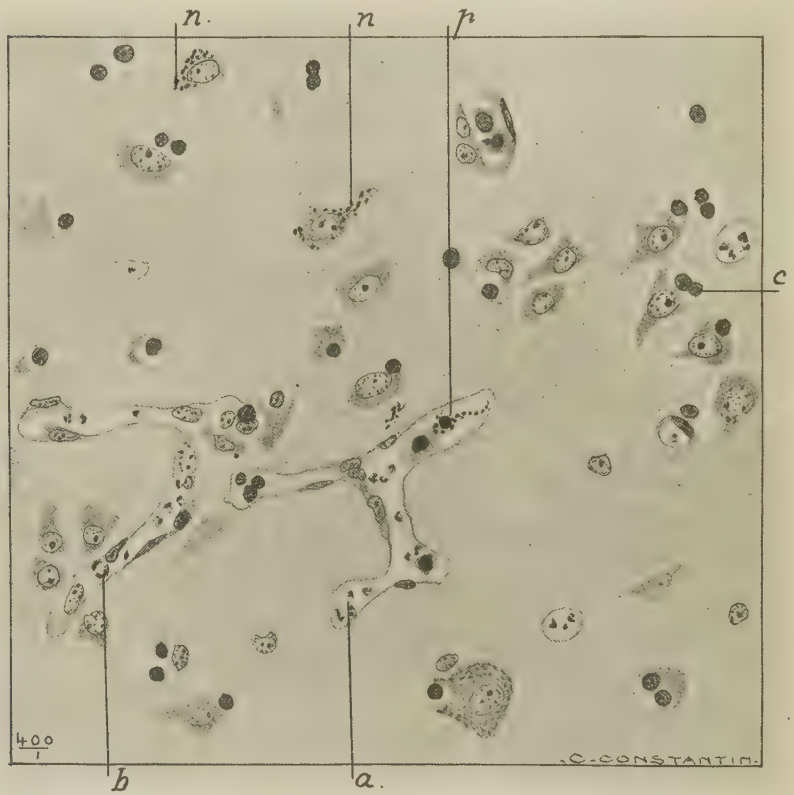


Fig. 3. — *Couche optique* : *n*, neurones qui renferment du pigment brun dans le protoplasma; *p*, pigment paludéen intravasculaire; *a*, hématies parasitées; *c*, cellules satellites; *b*, pigment paludéen dans un leucocyte.

dans les leucocytes intravasculaires, ainsi que, çà et là, dans le parenchyme cérébral, à l'état libre; on trouve également de vrais dépôts de pigment dans le parenchyme au fond des circonvolutions. Les cellules gliales apparaissent en plus nombreuses, parfois mobilisées autour de certains neurones et réalisant ainsi des figures de satellitose.

Ecorce pariétale. — Même altération des méninges qu'au niveau de l'écorce frontale. L'infiltration méningée est par endroits plus riche; les rangées de cellules d'infiltration se trouvant contre le parenchyme cortical sont constituées en majeure partie par des cellules mononucléaires, tandis que les polynucléaires sont amassés surtout à la surface des méninges. Le pigment paludéen imprègne les méninges de manière encore plus abondante que dans la région temporale. Grosse dilatation vasculaire dans les circonvolutions, qui sont bourrées de cellules d'infiltration, la plupart polynucléaires. Dans le parenchyme cérébral, on fait les mêmes constatations que dans la région précédente de l'écorce. Peut-être dans les neurones de la zone pariétale, le pigment brun est-il encore plus abondant. Les cellules ganglionnaires des couches profondes, cellules volumineuses et d'ordinaire riches en corps de Nissl, renferment également de ce pigment brun dans leur cytoplasme. Rares cellules de la série gliale, dans la proximité des vaisseaux, renfermant aussi de ce pigment. Légère prolifération gliale; rares figures de satellitose.

L'écorce occipitale présente les mêmes modifications histologiques que les deux régions corticales étudiées plus haut.

Dans la *couche optique,* altérations analogues (fig. 3) à celles déjà décrites. Nombreux parasites dans les vaisseaux, à l'intérieur des hématies ; présence de pigment mélanique dans l'endothélium vasculaire, ainsi que dans certains leucocytes intravasculaires; pigment brun dans des neurones. Il faut remarquer une certaine prolifération gliale, et la présence de rares petits mononucléaires (lymphocytes) dans le parenchyme cérébral.

Noyaux centraux. — Les neurones de cette région ont souvent les noyaux excentriques et hypochromatophiles. Dans leur cytoplasme, les corps de Nissl apparaissent en partie fondus, ramassés dans une partie de la cellule, l'autre partie du neurone étant occupée par des masses de pigment brun (fig. 4). On peut rencontrer certaines cellules nerveuses littéralement couvertes de pigment, dont la structure devient ainsi méconnaissable. De nombreux capillaires sont remplis exclusivement par des hématies parasitées.

Les parois du *3e ventricule* sont bourrées de pigment mélanique (1). Les cellules du *plexus choroïde* en renferment égale-

(1) Chaque fois que nous précisons « pigment malarique », il s'agit bien du pigment paludéen, identifié, entre autres réactions, par l'épreuve de polarisation au Nicol. Le pigment « brun » soumis à cette épreuve donne un résultat négatif. Nous donnons plus loin l'étude de ce dernier pigment.

ment, de même que les cellules des tuniques vasculaires des veines et artérioles, qui irriguent le plexus. Ces vaisseaux sont en général dilatés, gorgés de sang. Dans les grands vaisseaux, les hématies parasitées sont mélangées aux hématies normales; dans les vaisseaux de petit calibre, presque toutes les hématies sont parasitées.

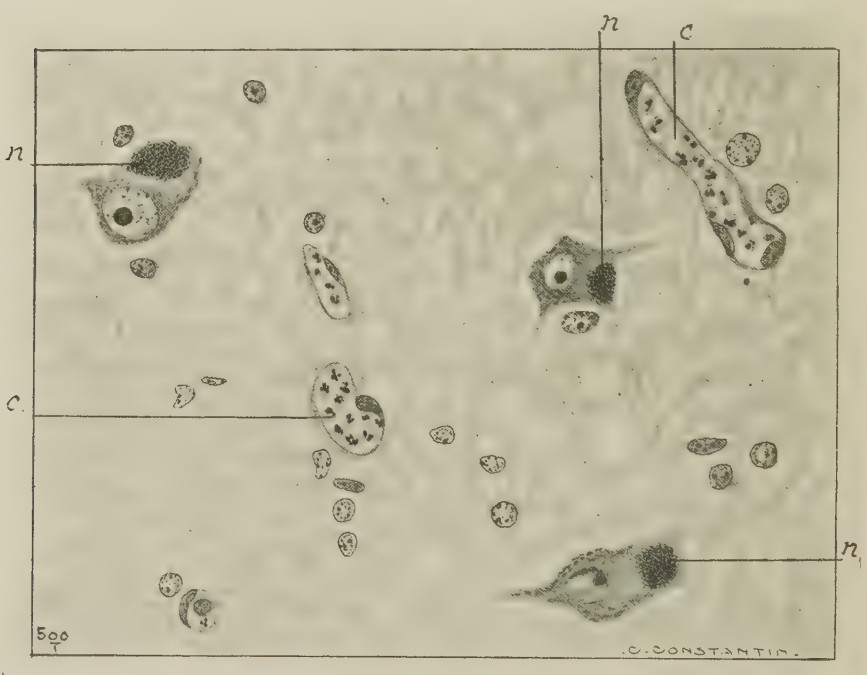


Fig. 4. — *Noyaux centraux* : *n*, masses de pigment brun dans des neurones ; *c*, hématies parasitées dans des petits vaisseaux (toutes les hématies de ces vaisseaux renferment des plasmodes).

Dans la *corne d'Ammon*, les cellules nerveuses ganglionnaires contiennent une grande quantité de pigment brun (fig. 5). Certains neurones apparaissent entourés de cellules gliales satellites. Absence de nodules d'infiltration, absence de manchons périvasculaires. Certains vaisseaux de la région sont obstrués par des thrombus leucocytaires dont les éléments sont constitués en majorité par des cellules mononucléaires.

Protubérance. — En plus des constatations faites aux niveaux

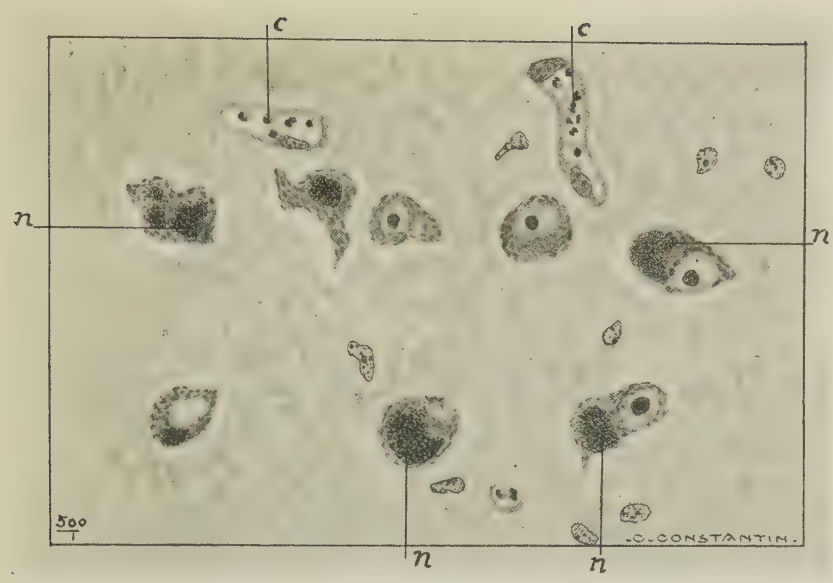


Fig. 5. — *Corne d'Ammon* : *n*, masses de pigment brun qui masquent parfois la structure de la cellule nerveuse; *c*, capillaires remplis d'hématies parasitées.

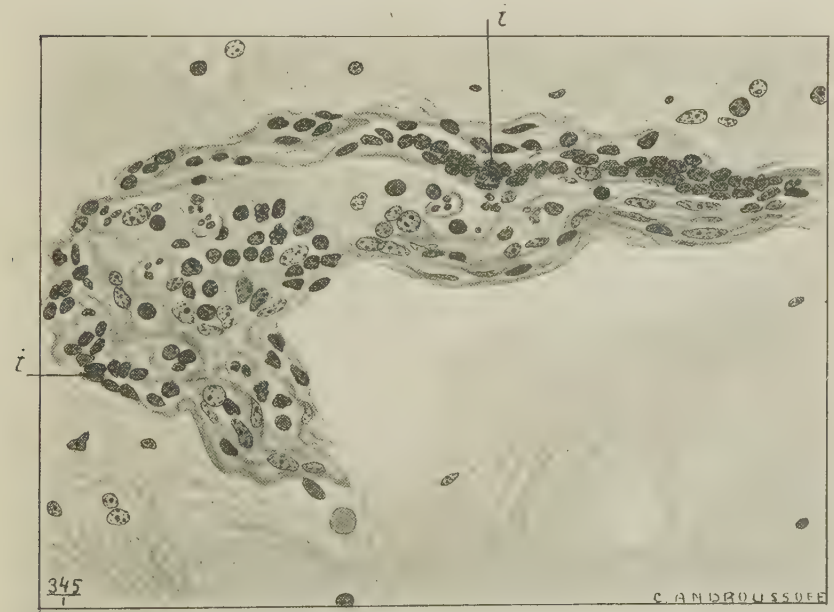


Fig. 6. — *Protubérance* : un vaisseau dont les parois sont infiltrées par des cellules mononucléaires (processus de périvascularite); *i*, cellules d'infiltration (leucocytes, cellules gliales).

précédents, on voit dans certains neurones une intumescence nucléolaire. Présence de manchons périvasculaires (fig. 6), présence également d'un nodule parenchymateux, constitué par une accumulation de cellules gliales et de mononucléaires d'infiltration (fig. 7). C'est la seule fois où nous ayons trouvé de telles formations dans le névraxe de notre cas. Il s'agit probablement

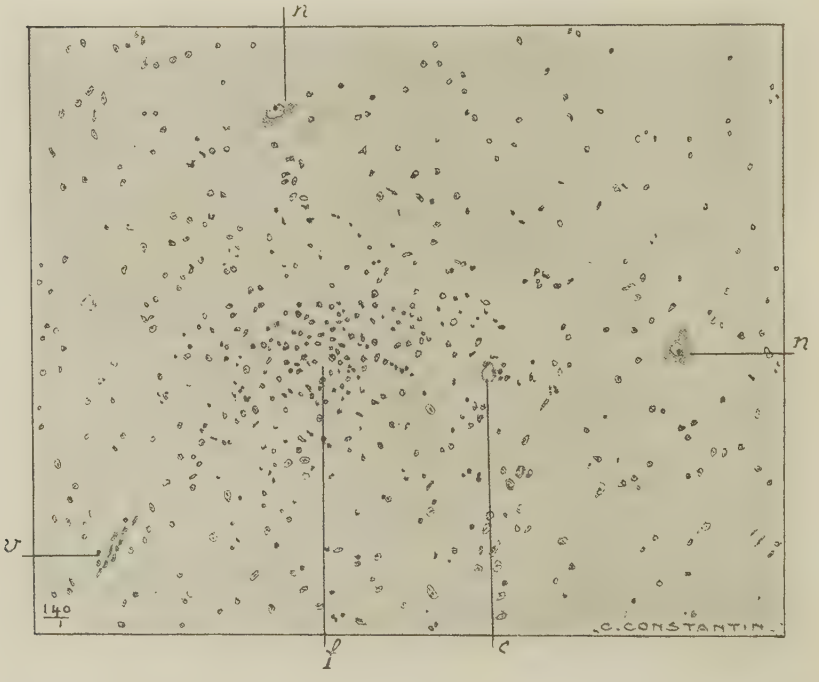


Fig. 7. — *Protubérance* : nodule à cellules mononucléaires (lymphocytes, cellules microgliques); *n*, neurone; *c*, capillaire; *f*, le nodule d'infiltration; *v*, petit vaisseau.

d'une ébauche de « granulome malarique ». Le fait ne nous surprend pas, puisque les auteurs ne sont pas d'accord sur la constance de ces formations dans le cerveau des individus morts de coma paludique (1).

Cervelet. — Œdème des méninges ; infiltration discrète des septums par des mononucléaires et des polynucléaires. Présence

(1) M. Marchoux a cherché ces nodules dans plusieurs cas, sans jamais les trouver (communication verbale).

de pigment malarique dans l'endothélium vasculaire (fig. 8).

Moelle. — Nous avons fait des coupes dans une dizaine de régions de la moelle. L'ensemble des constatations peut être résumé comme il suit :

Dans les méninges médullaires, on constate la présence de masses de pigment brun (fig. 9); par endroits, on voit du pig-

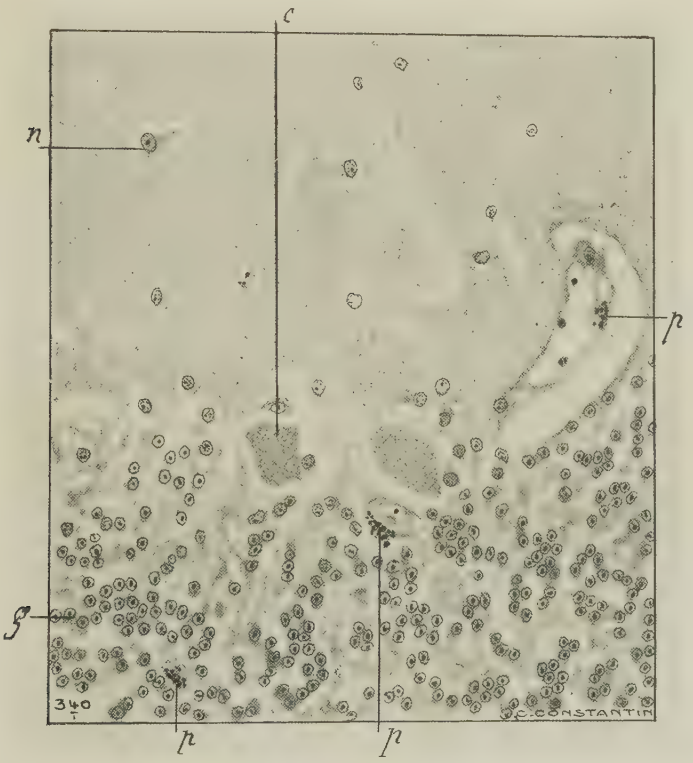


Fig. 8. — *Cervelet* : *c*, cellule de Purkinje; *p*, pigment paludéen dans l'endothélium vasculaire; *n*, neurone; *g*, cellules granulaires.

ment paludéen (mélanique), mais très peu abondant par rapport aux masses de pigment brun. Les méninges sont infiltrées par des éléments mononucléaires, disposés en plaques. Dans la scissure médiane antérieure, les vaisseaux sont dilatés et le septum rempli de polynucléaires. Présence de pigment brun et pigment mélanique dans l'adventice de certains vaisseaux méningés.

Dans la substance blanche médullaire, on trouve, par endroits, de beaux manchons d'infiltration autour de grands vaisseaux (fig. 10); parfois on voit du pigment en abondance dans l'endothélium vasculaire, ainsi que dans le tissu conjonctif périvasculaire. Dans les cornes antérieures, on trouve également des pro-

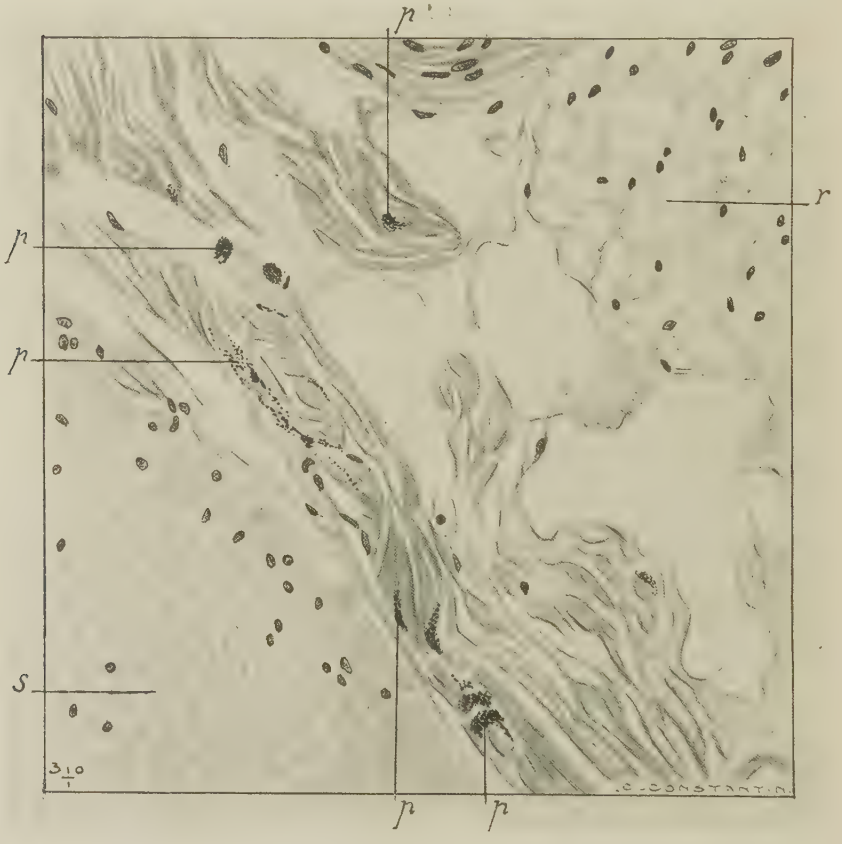


Fig. 9. — *Moelle* : *s*, substance blanche de la moelle; *r*, racine nerveuse; *p*, pigment brun dans les méninges.

cessus de périvascularite (fig. 11) ; à ce niveau, les éléments cellulaires de la série gliale sont très abondants : leur prolifération ne fait pas de doute. Un certain nombre de neurones sont altérés : le noyau perd sa structure, sa membrane est souvent invisible et, dans le cytoplasme, on trouve une grande quantité

de pigment brun (fig. 11, 12 et 13). Très souvent, la morphologie du neurone est complètement masquée par les masses de pigment. Les corps de Nissl apparaissent soit agglutinés en masses hyperchromatophiles, soit par places, lysés. Dans les capillaires gorgés d'hématies parasitées, on peut rencontrer des plaques de pigment noir paludéen. Dans les cornes latérales, on constate les même modifications histologiques que dans les cornes anté-

Fig. 10. — *Moelle* : processus de périvascularite dans la substance blanche de la moelle.

rieures. La figure 14 en fait foi. Au niveau des cornes postérieures, on trouve de nombreux processus de périvascularite, toujours à éléments mononucléaires ; la plupart des neurones sont farcis de pigment brun. Cette imprégnation des neurones par du pigment, plus intense dans les cornes latérales et antérieures, arrive à transformer complètement l'affinité tinctoriale du neurone ; celui-ci ne prend plus les couleurs basiques et apparaît sous forme d'ombre méconnaissable couverte par du pigment ; seule la présence des dendrites à contours très nets et colorés normalement, ainsi que l'existence parfois dans la

masse masquée par le pigment, de quelques corps de Nissl, per-

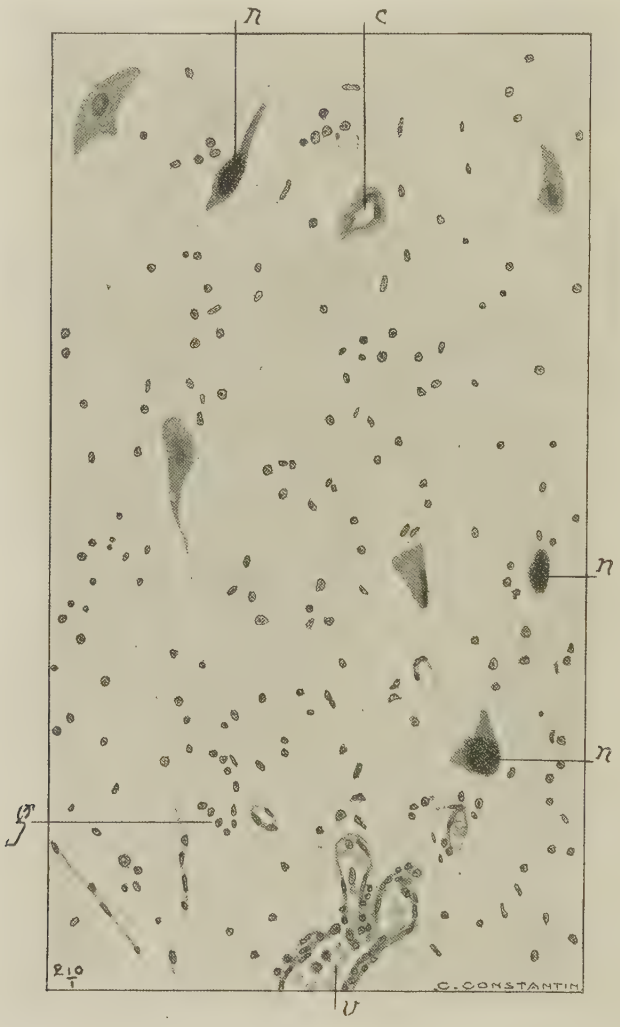


Fig. 11. — *Moelle dorsale* : corne antérieure; *v*, vaisseau entouré de manchon à cellules mononucléaires; *n*, pigment brun dans des neurones; *g*, cellules gliales; *c*, petit vaisseau.

mettent d'identifier le neurone. La prolifération gliale est plus intense dans les cornes postérieures.

Les racines nerveuses et les tronçons de nerfs que l'on observe

en section autour de la moelle présentent des processus de névrite infiltrative interstitielle avec ou sans présence de manchons péri-

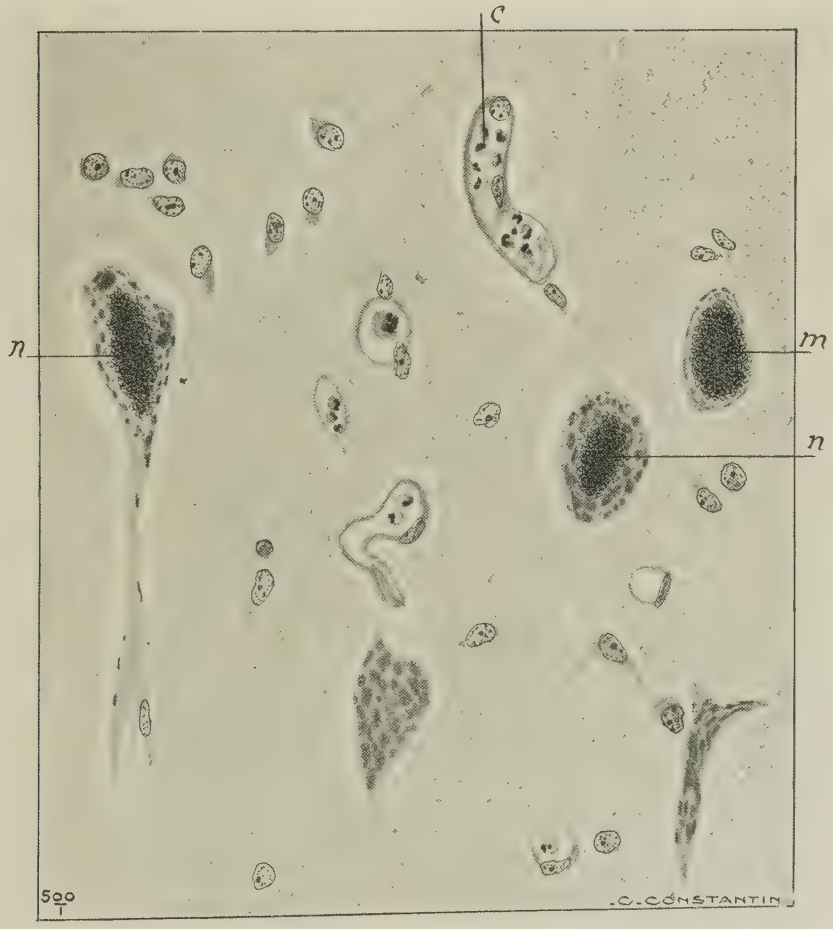


Fig. 12. — *Moelle lombaire* : corne antérieure; *n* et *m*, pigment brun en masses opaques masquant la structure des neurones; *c*, hématies parasitées dans un vaisseau.

vasculaires. Parfois, en suivant une racine postérieure depuis son émergence, on rencontre un beau processus de périvascularite, comme celui représenté dans la figure 15.

⁂

Avant de passer à l'étude du système nerveux périphérique, arrêtons-nous un instant pour préciser les caractéristiques du pigment « *brun* » que nous avons rencontré dans le névraxe, partout où ont porté nos examens.

ÉTUDE DU PIGMENT BRUN TROUVÉ DANS LE CYTOPLASME DE CERTAINS NEURONES NÉVRAXIQUES ET GANGLIONNAIRES

Sur les coupes non colorées, examinées au microscope, on constate la présence de deux sortes de pigment : un de nuance noire existant sous forme de plaques ou de grains de tailles et de formes irrégulières, et un autre aggloméré en masses plus ou moins denses et volumineuses de grains presque toujours réguliers et presque égaux, mesurant de 1 à 2 μ et de couleur brune. Çà et là, on constate des masses de pigments à très gros grains ronds, pouvant atteindre de 3 à 6 μ. Hâtons-nous d'ajouter que nos investigations relatives à ce pigment ont porté surtout sur des coupes de ganglions spinaux, qui sont particulièrement riches en pigment. Le premier pigment signalé, noir, de forme irrégulière, est le pigment paludéen. Examiné à l'aide de l'appareil de polarisation de Nicol, il laisse passer la lumière et apparaît brillant. Il se trouve dans les parois vasculaires, dans les leucocytes, parfois dans des cellules gliales, dans certaines cellules conjonctives de la capsule des ganglions spinaux ou même dans des cellules capsulaires autour des cellules nerveuses des ganglions, voire même libre, dans le parenchyme névraxique. Nous n'avons jamais trouvé le pigment paludéen à l'intérieur des neurones. Par contre, le pigment brun que nous avons signalé plus haut, n'est pas biréfringent : examiné à l'aide de l'appareil de polarisation, il reste sombre, ne laisse pas passer la lumière. Il se trouve dans les régions où nous l'avons signalé plus haut, en grande quantité, à l'intérieur des neurones, spécialement dans les cellules nerveuses des ganglions spinaux, où nous avons pu faire les constatations qui suivent :

Dans les neurones des ganglions spinaux, le pigment brun

ne masque pas entièrement la structure de la cellule, comme dans certains neurones de l'encéphale ou de la moelle, mais occupe de préférence une surface du cytoplasme, qui varie du quart à la moitié de la cellule. Quand il est en couche mince, il apparaît brun jaunâtre ; en couches épaisses, il semble d'un

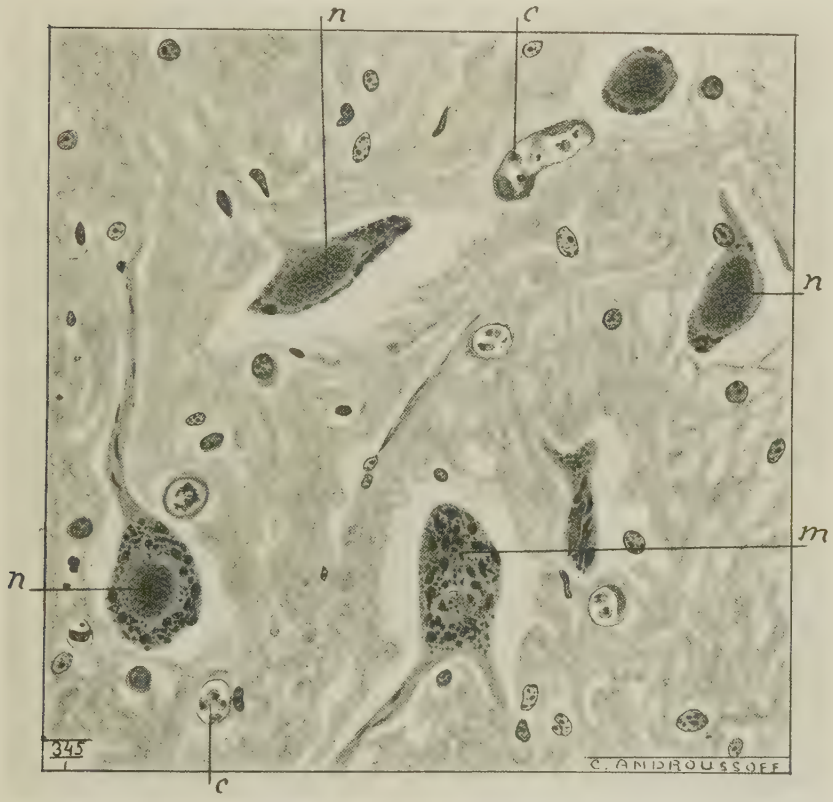


Fig. 13. — *Moelle lombaire* : corne antérieure; *c*, hématies parasitées dans un petit vaisseau ; *n*, pigment brun; *m*, corps de Nissl « floculés ».

brun foncé qui, sur les coupes fraîches, peut aller jusqu'au noir. Dans certains champs microscopiques, ce pigment existe dans toutes les cellules nerveuses. Sur les préparations colorées depuis plusieurs mois, au Mann, ou au Giemsa lent, le pigment subit des transformations : certaines cellules renferment du pigment jaune, jaune pâle, parfois des grains de pigment qui apparaissent

décolorés, *en négatif*, sur le fond coloré de la préparation, tandis que d'autres neurones, dans le même champ microscopique, contiennent du pigment brun noir, ou même noir. S'agit-il de deux espèces différentes de pigment ? Nous ne le croyons pas, et

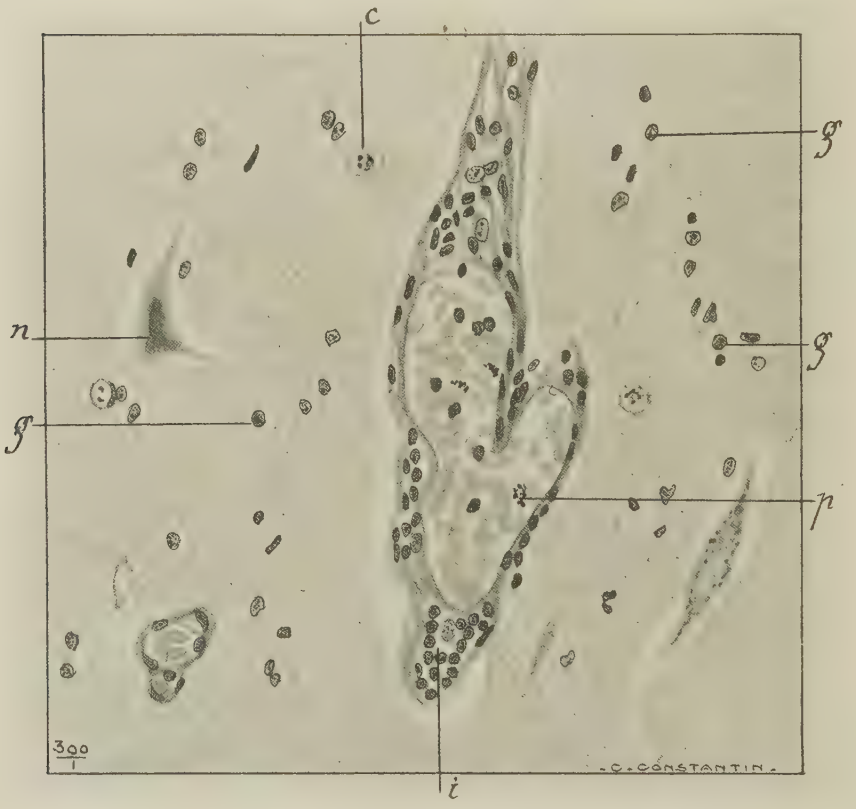


Fig. 14. — *Moelle* : corne latérale; *n*, neurone; *i*, infiltration périvasculaire; *p*, pigment paludéen; *g*, cellules gliales; *c*, capillaire.

croyons pouvoir interpréter ce phénomène par la comparaison suivante : une goutte d'encre diluée et étalée sur du papier se décolore beaucoup plus vite qu'une goutte concentrée.

Nous allons comparer les propriétés de ce pigment brun, avec celles du pigment paludéen et celles d'autres pigments. Disons d'abord que, selon les derniers travaux sur la question, nous ne

confondons pas le pigment paludéen (hémozoïne) avec la mélanine.

Voici la différence entre ces deux sortes de pigment :

	Hémozoïne (pigment paludéen)	Mélanine
Potasse alcoolique.....	Soluble.	Insoluble.
Permanganate de K.....	Ne se décolore pas.	Se décolore.

Ajoutons que ni l'un ni l'autre de ces deux pigments ne donnent la réaction du fer (Turnbull).

Notre pigment brun n'est pas du pigment paludéen, puisqu'il ne laisse pas passer la lumière à travers l'appareil de Nicol.

Il n'est pas, non plus, du pigment carotinoïde (1), parce que ce dernier donne une réaction bleue avec l'acide sulfurique et noir violet avec l'iode; notre pigment ne donne pas ces réactions.

Il n'est pas un pigment du groupe des chromolipoïdes : ces derniers rougissent par le Soudan et par le Ponceau; le nôtre se colore en *jaune orange par le Soudan. L'acide sulfurique donne parfois une réaction rouge* avec le chromolipoïde, notre pigment ne donne aucune coloration spéciale avec ce réactif. Les chromolipoïdes résistent aux alcalis et aux acides; le pigment brun est dissout par la potasse alcoolique et décoloré par l'acide chromique.

Notre pigment ne peut pas être confondu avec le pigment ocre; ce dernier donne la réaction du fer ; notre pigment brun ne la donne pas.

En 1911, *Claude* et *M^lle Loyer* ont observé, dans les cellules nerveuses situées auprès d'hémorragies cérébrales en voie de résorption, l'apparition de pigment ocre et d'un pigment noir semblable à celui de la malaria. Il s'agissait de pigment de désintégration du sang. Notre pigment brun, à notre avis, n'entre pas non plus dans cette catégorie.

Nous sommes tentés de croire que notre pigment pourrait être celui décrit et discuté par plusieurs auteurs sous le nom du

(1) Les pigments du beurre, du lait, du sérum sanguin et de la graisse du corps sont représentés par la carotine et, accessoirement, en quantité variable par la xantophile.

Pour le problème des pigments, nous avons consulté, entre autres travaux, la monographie de J. Verne : *Les pigments dans l'organisme animal.* Paris, Gaston Doin.

pigment jaune de la cellule nerveuse. Il est possible que les quelques différences que nous saisissons soient dues à l'abondance du pigment dans notre cas, et à l'aspect particulier que revêtirait ce même pigment se trouvant en masses compactes. En effet, notre pratique de l'examen du système nerveux nous autorise à le dire : chez l'homme mort de polyomyélite, par exemple, dans les neurones de la moelle et dans les ganglions spinaux, on

Fig. 15. — *Racine postérieure d'un nerf spinal* : infiltration périvasculaire intense.

trouve à peine des traces de pigment jaune dans de rares cellules, et sous forme de couches très minces à une faible coloration jaunâtre. Exceptionnellement, notre pigment brun peut se trouver sous cet aspect, ainsi que nous l'avons signalé plus haut ; il apparaît au contraire, le plus souvent, sous formes de masses compactes intracytoplasmiques, colorées en brun, brun foncé, allant jusqu'au noir.

Quoi qu'il en soit, et dans la supposition vraisemblable de l'identité de ces deux pigments (dont la différence serait due seulement à la fréquence des cellules en refermant, et surtout à l'abondance du pigment au sein des cellules), voyons d'après

Verne les opinions de quelques auteurs sur la nature du pigment jaune des cellules nerveuses.

Obersteiner (1893) avait admis qu'il s'agissait d'une *substance graisseuse*, peu soluble ou même insoluble dans les solvants organiques. *Rosin* (1896), *Rosin* et *Fenyvessy* (1900), *Mühlmann* (1901), *Olmer* (1901), *Smallwood* et *Roger* chez les invertébrés (1908), en ont fait un *lipochrome*. *Marinesco* (1919) soutient que le pigment jaune contient de la myéline. *Casamajor* (1910) pense qu'il s'agit d'une lécithinoïde. *Roussy* et *Laroche* (1912), *Luna* (1912) font du pigment jaune un lipoïde. *Ziveri* (1912) pense qu'il s'agit de phosphatides et de cérébrosides en combinaison, ou non, avec la cholestérine. *Biondi* y voit un mélange de lipoïdes et de graisses neutres. *Buscaino* (1913) arrive à la conclusion qu'il s'agit de phosphatides et de cérébrosides avec des traces d'autres substances.

Tout ceci montre que la question du pigment des cellules nerveuses est loin d'être élucidée. Ajoutons que, d'après Verne, les pigments des cellules nerveuses peuvent être ramenés à trois catégories principales: les plus répandues sont les chromolipoïdes *(locus cœruleus, locus niger)*. On trouve parfois, le pigment précédent leur servant souvent de substratum, des carotinoïdes. Enfin, on a décrit des mélanines; mais il est certain que, comme pour la corticale surrénale, il y a eu parfois confusion entre les chromolipoïdes très évolués et les mélanines. Notre pigment brun n'entre pas dans cette classification sommaire de Verne, parce que, pour les raisons indiquées plus haut, il n'est pas un chromolipoïde, ni une mélanine, ni un carotinoïde.

Si l'on veut adopter une définition concise, le pigment peut être désigné par l'expression « *produit de métabolisme* ». Tout porte à croire que, dans le paludisme à forme tropique nerveuse, le métabolisme des neurones est profondément perverti, au point de donner les aspects morphologiques du neurone décrit plus haut et surtout les aspects que nous précisons dans ce qui va suivre.

Revenons à l'étude de notre pigment brun ; nous avons fait les réactions sur des coupes particulièrement riches de ce pigment et provenant des ganglions spinaux :

1) L'acide sulfurique ne décolore pas le pigment brun, et ne le dissout pas. Il ne le fait colorer ni en bleu (comme les carotinoïdes), ni en rouge (comme certains chromolipoïdes).

2) L'acide chromique à 1 % n'a pas d'action après 15 minutes de contact, mais après 12 à 24 heures, le pigment est complètement décoloré.

3) Avec le Soudan III, notre pigment se colore en jaune doré (orange).

4) Après décoloration totale du pigment à l'aide de l'acide chromique, il se colore toujours en jaune doré par le Soudan III.

5) L'examen direct, sans coloration (xylol, baume de Canada), met en évidence notre pigment en jaune brun, ou en brun foncé avec reflets noirs.

6) L'iode ne le colore pas en violet.

7) Sur les préparations colorées fraîchement au Mann, au Giemsa, ou à l'Eosine-polychrome d'Unna, le pigment apparaît brun; à la longue oxydé, le pigment se décolore plus ou moins complètement.

8) La potasse alcoolique dissout notre pigment brun.

9) Le permanganate de K, par contre, le renforce, et sur les préparations colorées, mais traitées préalablement au permanganate, le pigment brun apparaît de beaucoup plus évident.

10) La réaction de Turnbull, pour la mise en évidence du fer, est négative avec notre pigment.

11) Examiné à travers le Nicol croisé, son image est sombre, à l'encontre de celle du pigment paludéen.

Voici un tableau comparatif des réactions de plusieurs pigments :

	Nicol croisé	Acide sulfurique	Acide chromique	Potasse	Iode	Soudan III	Permanganate de K	Réaction du fer (Turnbull)
Paludéen.	Positif.	Sans action.	Sans action.	Sans action.	Sans action.	—	—	Négative.
Chromolipoïdes ..	Négatif.	Rouge ou sans action.	Sans action.	Sans action.	Sans action.	Rouge.	—	—
Carotinoïdes	Négatif.	Bleu.	Décoloré.	—	Violet.	—	—	—
Notre pigment br.	Négatif.	Sans action.	Décoloré.	Dissous.	Sans action.	Jaune d'or.	Renforcé.	Négative.

Ajoutons encore la remarque suivante :

Dans le parenchyme cérébral de notre cas, tout point noir (pigment paludéen) se laisse traverser par la lumière passée à travers le Nicol croisé. Çà et là, dans des cellules conjonctives bourrées de pigment brun, on voit à travers le Nicol croisé, dans la masse de ce dernier pigment, un point brillant constitué par du pigment paludéen.

Certaines cellules microgliques apparaissent également très biréfringentes; nous ne croyons pas que cette propriété soit due

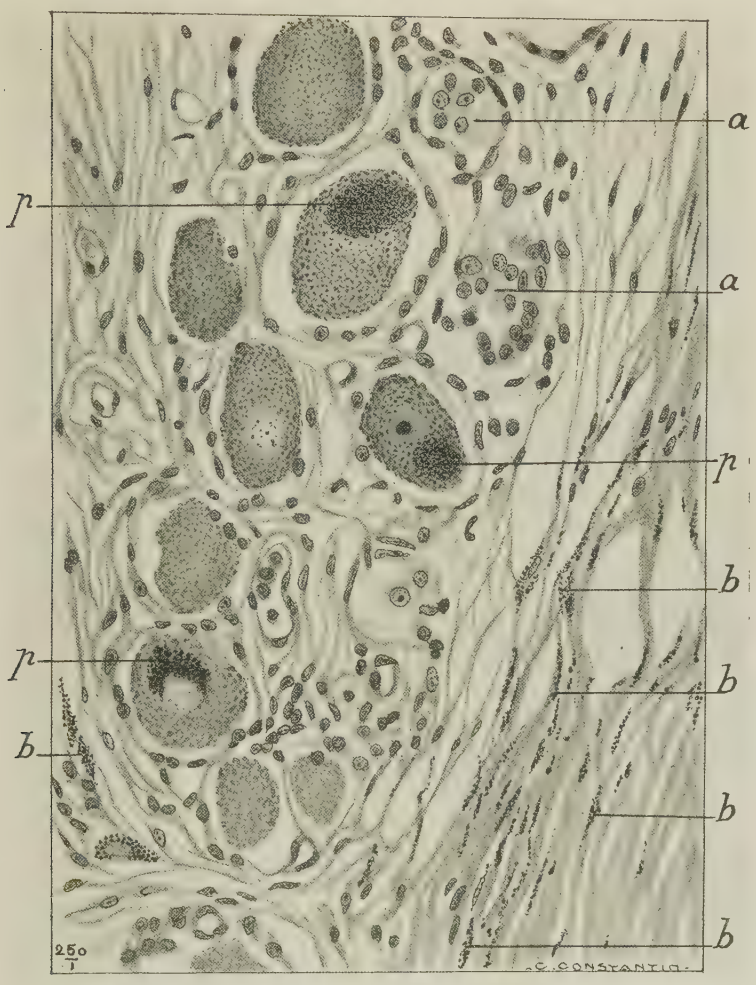


Fig. 16. — *Ganglion spinal* : *p*, pigment brun dans des neurones; *a*, neurones dégénérés, envahis par des cellules mononucléaires; *b*, pigment brun, abondant, dans le tissu conjonctif de la capsule ganglionnaire.

à la présence du pigment paludéen, — invisible d'ailleurs à l'examen direct, — puisque, dans le cerveau des lapins normaux, nous avons constaté le même phénomène.

ÉTUDE HISTOLOGIQUE DU SYSTÈME NERVEUX PÉRIPHÉRIQUE

Ganglions spinaux. — Les modifications histologiques les plus accusées de tout le système nerveux se trouvent dans les ganglions spinaux. La capsule conjonctive du ganglion est imprégnée de manière intense par du pigment brun (fig. 16); çà et là, on

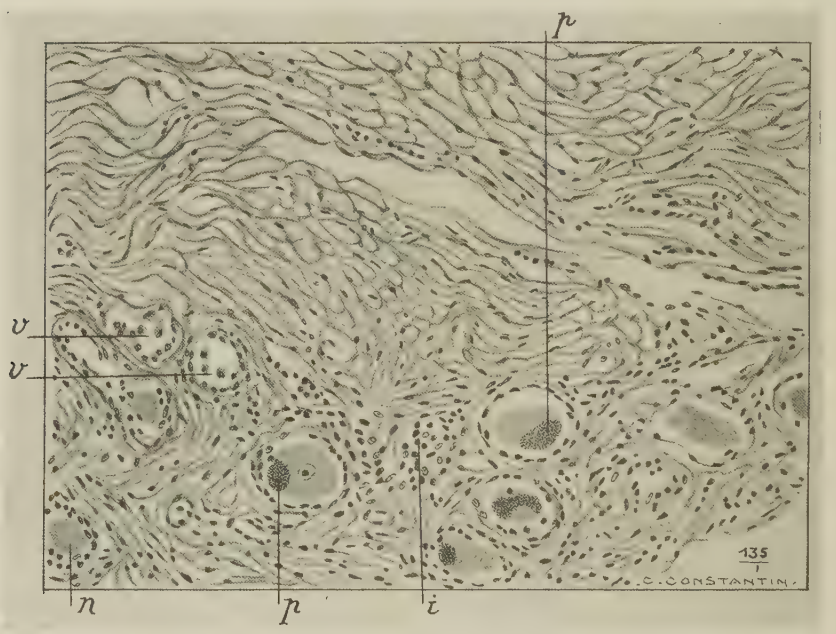


FIG. 17. — *Ganglion spinal* : infiltration interstitielle à mononucléaires; *p*, pigment brun dans des neurones; *v*, neurone atrepsique, envahi par des cellules capsulaires ; *i*, infiltration nodulaire ; *n*, neurone entouré de plusieurs rangées de cellules capsulaires.

trouve un grain de pigment paludéen. Dans le parenchyme du ganglion, on constate une infiltration parenchymateuse par des cellules mononucléaires. A l'intérieur des capillaires, ou dans des cellules endothéliales des vaisseaux, on peut voir du pigment paludéen.

Les neurones peuvent présenter des altérations manifestes. Les corps de Nissl sont plus ou moins modifiés, groupés en plaques,

floculés, voire même lysés. Dans le cytoplasme de nombreuses cellules nerveuses, on voit du pigment brun en abondance (fig. 16, 17, 18 et 19). Les cellules capsulaires, autour des neu-

Fig. 18. — *Ganglion spinal* : *a*, infiltration parenchymateuse intense, à mononucléaires ; *c*, neurone entouré de plusieurs rangées de cellules capsulaires; *n*, cellule nerveuse envahie en partie par des rangées de cellules d'infiltration et par des amphicytes; *i*, nodule résultant de l'envahissement total d'un neurone par des cellules mononucléaires; *t*, neurone en partie dégénéré.

rones, prolifèrent et parfois ont tendance à envahir la cellule nerveuse. Certains neurones atrepsiques, en état de lyse, sont tout à fait envahis par des cellules capsulaires et par des éléments d'infiltration (fig. 16, 17 et 18); sous la poussée envahissante

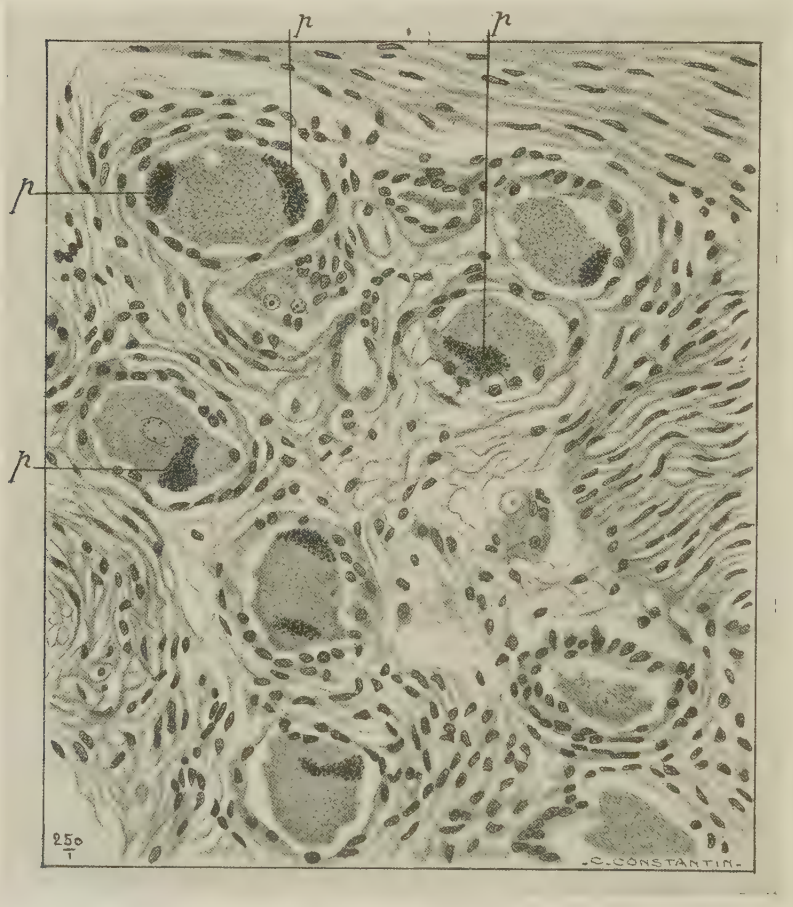


Fig. 19. — *Ganglion spinal* : *p*, pigment brun dans le cytoplasme des neurones.

de ces cellules, le neurone disparaît et sa place est marquée par un nodule d'éléments d'infiltration.

La figure 20 montre trois neurones de ganglions spinaux en état de désintégration avancée, envahis par des cellules mononucléaires.

Les racines nerveuses, ainsi que nous l'avons mentionné plus haut, peuvent présenter des lésions de névrite interstitielle, avec manchons périvasculaires. Les tronçons nerveux efférents mon-

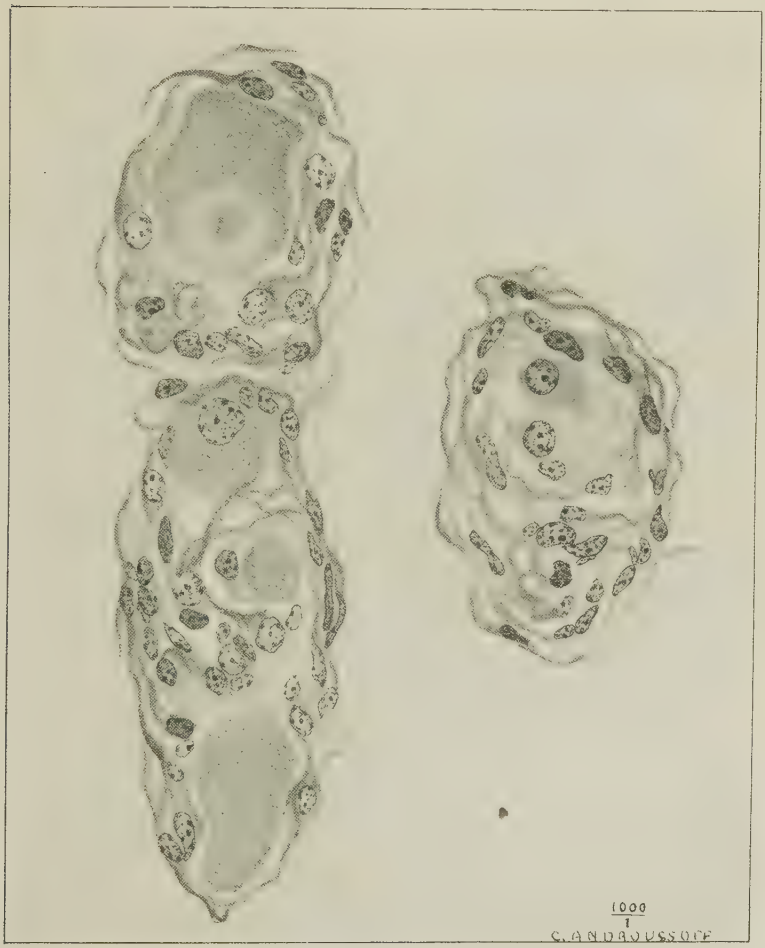


Fig. 20. — *Cellules nerveuses des ganglions spinaux,* en état de désintégration avancée, envahies par des cellules mononucléaires.

trent souvent des processus infiltratifs, surtout dans les cloisons de tissus conjonctifs et autour des vaisseaux (fig. 21).

Nerf sciatique. — Dans le nerf sciatique, l'infiltration intersti-

tielle est à peine ébauchée; çà et là, on constate dans le tronc nerveux un lymphocyte.

Pneumogastrique. — Par contre, dans le pneumogastrique, l'infiltration interstitielle est assez marquée. La figure 22 montre, à

Fig. 21. — *Racine nerveuse*, dans la portion juxta-ganglionnaire (ganglion spinal); *c*, travée de cellules d'infiltration; *t*, tissu nerveux; *i*, nodules d'infiltration; *n*, tissu conjonctif infiltré.

la périphérie du tronc nerveux, un processus d'infiltration net.

Ganglion plexiforme. — Les modifications histologiques trouvées dans le ganglion plexiforme sont en tout comparables à celles des ganglions spinaux : dans la capsule ganglionnaire, on trouve du pigment brun en abondance, ainsi que dans les neu-

rones (fig. 23). Le pigment paludéen peut être libre, ou à l'intérieur des vaisseaux, ou encore dans l'endothélium vasculaire. L'infiltration interstitielle, ainsi que la prolifération des cellules capsulaires, sont bien marquées. Certains neurones sont en

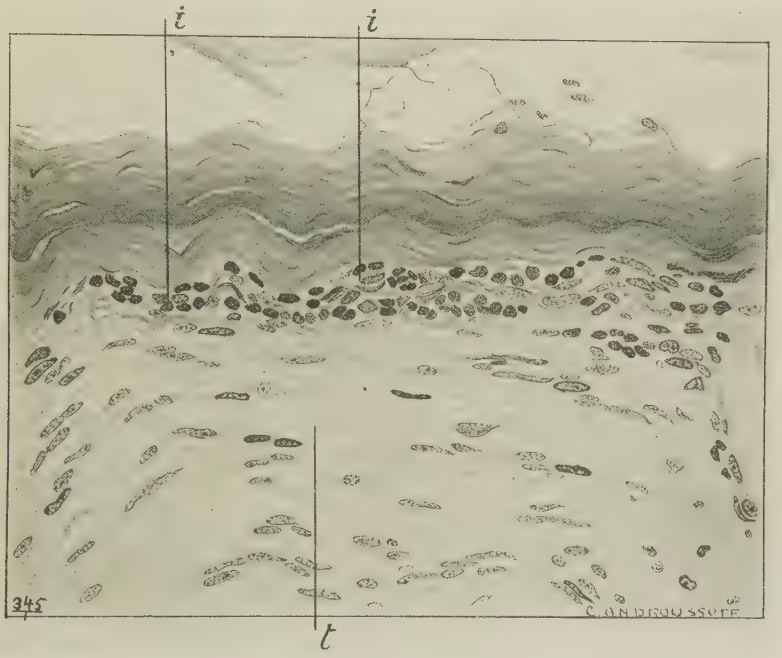


Fig. 22. — *Nerf pneumogastrique* : infiltration interstitielle et manchon périvasculaire; *i*, cellules d'infiltration; *t*, le tronc du nerf.

état de lyse, plus ou moins envahis par des cellules capsulaires et par des cellules d'infitration (fig. 23) ; d'autres, en état de désintégration avancée, vacuolés, ne sont qu'à l'état de vestiges de cellules nerveuses, bourrées de cellules mononucléaires (fig. 24).

⁂

CONCLUSIONS

Les altérations du système nerveux, occasionnées par l'infection à plasmodium falciparum *ayant abouti au coma mortel, se résument de la manière suivante :*

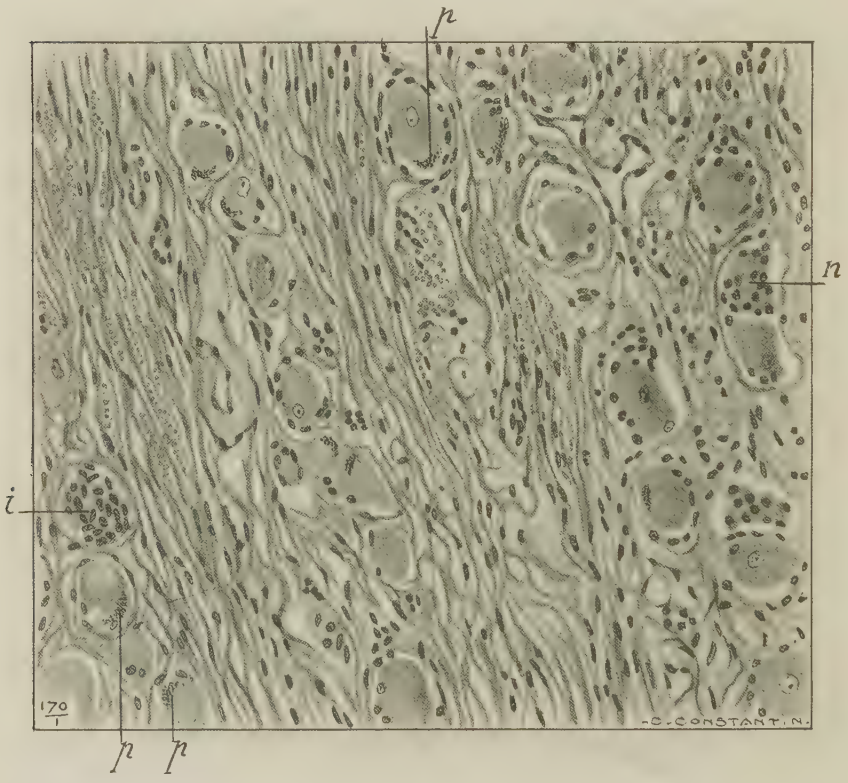


Fig. 23. — *Ganglion plexiforme* : infiltration interstitielle; *n*, neurone dégénéré, envahi par des mononucléaires ; *i*, nodule qui remplace un neurone détruit ; *p*, pigment brun.

Névraxe. — a) *Méningite aiguë à polynucléaires et œdème des méninges, superposée à une méningite chronique, probablement aussi de nature paludique;* b) *altérations des neurones, intumescence nucléolaire, hypochromatophilie du caryoplasme, floculation des corps de Nissl, chromatolyse;* c) *prolifération et mobili-*

sation gliale; d) *légère infiltration parenchymateuse à mononucléaires, infiltration qui aboutit parfois à la formation de nodules;*

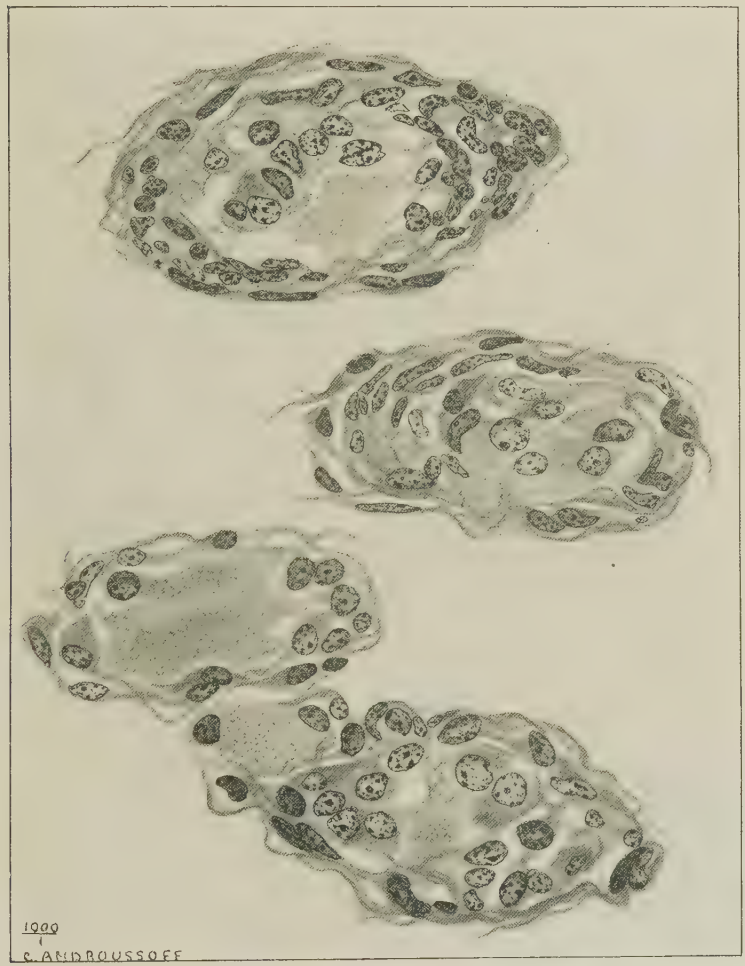


Fig. 24. — *Cellules nerveuses du ganglion plexiforme,* en état plus ou moins avancé de dégénérescence, envahies par des cellules capsulaires et par des éléments d'infiltration.

e) *lésions vasculaires : processus de périvascularite, altération de l'endothélium vasculaire, thromboses réalisées par des masses de parasites, hémorragies;* f) *Présence du pigment malarique, à*

l'état libre dans le parenchyme névraxique ou dans des cellules conjonctives, méningées, endothéliales ou névrogliques; le pigment mélanique n'a jamais été trouvé dans des neurones; g) *Par contre, un autre pigment brun, dont l'étude montre qu'il ne peut pas entrer dans le cadre des pigments carotinoïdes, ni de ceux chromolipoïdiques, qui ne contient pas de fer et qui n'est pas biréfringent comme le pigment mélanique, se trouve très abondamment dans le névraxe, surtout dans le cytoplasme des neurones, dont il masque parfois complètement la structure; nous croyons qu'il s'agit d'un produit spécial dû à l'action du parasite, ou de ses sécrétions sur le métabolisme cellulaire.*

Système nerveux périphérique. — *Les altérations les plus importantes ont été trouvées dans les ganglions spinaux et dans le ganglion plexiforme. En plus des masses considérables de pigment brun intraneuronique, nous avons constaté une infiltration parenchymateuse intense à mononucléaire, une prolifération des cellules capsulaires et des lésions de dégénérescence des neurones, qui peuvent aller jusqu'à la neuronécrobiose.*

Dans les racines nerveuses, ainsi que dans les nerfs (pneumogastrique, sciatique), on peut trouver des lésions de névrite interstitielle avec des processus de périvascularite.

BIBLIOGRAPHIE

Baumstarck : *Berl. Kl. Wochschr.*, 1900, p. 815.
Bratianu (S.) et Llombart (A.) : *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1929, t. 101, p. 792.
Brown (U.-N.) : *J. of exp. Med.*, 1911, t. 13.
Campbell (Highet) : *J. of Trop. Med.*, 1898, p. 92.
Cerletti (V.) : *R. Acad. d. Lincei*, 1909, t. 18, série 5, fasc. 3.
Claude (H.) et M^lle^ Loyez : *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1911.
Id. : *Arch. Med. Exp.*, 1912, t. 24.
Deutmann : *Seneesk. Tydschr. v. Ned. Ind.*, 1904, t. 44, p. 660.
Driels (Van) : *Seneesk. Tydschr. v. Ned. Ind.*, 1914, t. 54, p. 215.
Dürck (H.) : *Arch. f. Schiffs u. Tropp. Hyg.*, 1917, t. 21, p. 117.
Id. : *Munchn. Med. Wochschr.*, 1921, n° 2.
Id. : *Rev. Med. Veracruz.*, 1923, p. 230.
Id. : *Festschr. d. Hamburg. Inst. f. Schiffs u. Troppenkrank.*, 1925, p. 43.
Engel (R. v.) : *Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.*, 1925, t. 96, p. 340.
Ewald (C.-A.) : *Berl. Kl. Wochschr.*, 1900, p. 845.
Fränkel (M.) : *Artzl. Ver. Hamburg*, 20 novembre 1917. *Ref. Neurol. Zentralbl.*, 1917, p. 1022.
Freifeld (E.-I.) : *Russ. J. Trop. Med. Moscow*, 1924, n° 1, p. 1.
Haughton (Heard) : *J. of Trop. Med. a. Hyg.*, 1915, p. 271.
Lafora (G.-R.) : *J. f. Psychol. u. Neurol.*, 1912, t. 19, p. 209.

LAVERAN : *Traité du paludisme.* Paris, Masson, édit., 1907.
LENDERS : *Malaria,* t. 2, cah. 4.
MARCHIAFAVA (E.), BIGNAMI et MANNABERG (J.) : Londres, *The New Sydenham Society,* 1894.
MARCHOUX : *Paludisme.* Paris, Baillière, édit., 1926.
MARGULIS (M.-S.) : *Neurolog. Centralbl.,* 1914, t. 33, cah. 16-17.
MARINESCO (G.) : « La cellule nerveuse. » (*Encycl. Sc.* Paris, Doin, édit., 1909.)
ID. : *Bull. Acad. Méd.,* 1920, t. 84, p. 368.
MONIER, VINARD, PAISSEAU et LEMAIRE : *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris,* 1916, t. 11, p. 1607.
NICOLAU (S.) : *Rev. Stiint. Med.,* Bucarest, 1928, t. 17, p. 342.
NICOLAU (S.) et GALLOWAY (I.-A.) : « Borna Disease, etc. » (*His Majesty's Stationery Office,* Londres, 1928.
ID. : *Ann. Inst. Pasteur,* 1930, t. 45, p. 457.
NOCHT (B.) : *Lehrb. d. Infektionskr.* (Jochmann-Hegeler), 1924.
OBREGIA et POPEIA : *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Bucarest,* 1924, t. 6, p. 136.
OSTERLIN (E.) : *Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych.,* 1920, t. 57, 1/5.
ID. : *Ibid.,* 1924, t. 88, 1/3.
PHOTAKIS (B.) : *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.,* 1929, t. 33, p. 267.
REES (D.-C.) : *Brit. Med. J.,* 1900, p. 308.
REITANO (R.) : *Policlinico,* 1927, t. 34, p. 49.
SCHILLING (v.) : *Spez. Path. u. Therap. inn. Krank.* (Kraus-Brugsch), 1919, t. 2.
SEYFARTH (C.) : *Verhandl. d. deutsch. patholog. Gesellsch.,* Iéna, 1921, t. 18, p. 303.
ID. : « Die Malaria. » (*Handb. d. spez. path. Anat. u. Hist.,* 1926, p. 178.)
SPILLER (W.-G.) : *Contrib. f. W. Pepper Lab. of Clin. Med.,* Philadelphie, 1901, t. 4, p. 20.
THOMSON (J.-G.) et ANNECKE (S.) : *J. of Trop. Med. a. Hyg.,* 1926, 15 octobre.
URCHS (O.) : *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.,* 1927, t. 31, p. 365.
VERNE (J.) : « Les pigments, etc. » (*Encycl. Sc.,* Paris, Doin, édit., 1926.)
WARASI (W.) : *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.,* 1927, t. 31, p. 432.
WEINGARTNER (A.) : *Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.,* 1920, t. 24, p. 193.
ZIERMANN : « Die Malaria. » (*Menses Handb. d. Troppenkrank.,* 1924.)

PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES D'UNE SUBSTANCE NON PROTÉIQUE, A LA FOIS TOXIQUE, SPÉCIFIQUE ET IMMUNISANTE, EXISTANT DANS LES FORMES S DU B. D'AERTRYCKE ET DU B. DE GAERTNER, ET MANQUANT DANS LES FORMES R DES MÊMES BACTÉRIES.

ANTIGÈNES « COMPLETS » ET ANTIGÈNES « RÉSIDUELS » (1)

par

André BOIVIN, Lydia MESROBEANU et Ion MESROBEANU

(Travail des Laboratoires de Chimie biologique et de Médecine expérimentale de l'Institut Cantacuzène et de la Faculté de médecine de Bucarest.)

INTRODUCTION

Pendant longtemps, on pensa que les protéines microbiennes étaient seules responsables de la spécificité des bactéries et de la propriété que présentent les microorganismes d'immuniser l'animal auquel on les injecte. Depuis une quinzaine d'années, l'attention s'est trouvée attirée chaque jour davantage vers le rôle important que jouent les polysaccharides dans la spécificité et dans le pouvoir immunisant des microbes. Un historique complet de la question ne saurait trouver sa place dans le présent travail. Nous rappellerons seulement qu'en 1917, Dochez et Avery découvrirent dans le sang et l'urine des pneumoniques et dans les cultures du pneumocoque, l'existence de polysaccharides capables de

(1) Travail reçu le 14 février 1935.

précipiter à haute dilution avec les sérums antimicrobiens correspondants, et que, ultérieurement dans une série de magnifiques travaux, les chercheurs de l'Institut Rockefeller : Avery, Gœbel, Heidelberger, étudièrent la composition chimique et les propriétés biologiques des polysaccharides spécifiques caractérisant les divers types de pneumocoques. Les polysaccharides spécifiques du pneumocoque furent rattachés à cette catégorie de corps que Landsteiner appelle « haptènes », qui sont doués de propriétés spécifiques en ce sens qu'ils sont susceptibles de réagir *in vitro* avec certains immun-sérums, mais qui sont incapables de déclancher la formation d'anticorps lorsqu'on les injecte à l'état libre, dans l'organisme animal. Heidelberger et ses collaborateurs émettent l'hypothèse que, dans la bactérie, le pouvoir antigénique est conféré à un complexe résultant de l'union d'un polysaccharide spécifique avec une protéine ou une nucléo-protéine. En réalité, la question est beaucoup moins simple que ce rapide aperçu ne semble l'indiquer. Tout récemment, Zozaya a pu faire jouer un rôle antigénique aux polysaccharides spécifiques du pneumocoque en les adsorbant sur de fines particules de collodion, et divers auteurs : Schiemann et Casper, Zozaya et Clark, etc..., affirment que ces polysaccharides, absolument libres de toute adsorption, peuvent immuniser l'animal, mais à la condition expresse qu'on les utilise à doses très faibles et bien étudiées, car à doses fortes ils sensibiliseraient l'organisme contre le pneumocoque. Enfin, Avery et Gœbel viennent de prouver que le polysaccharide spécifique qui existe dans le pneumocoque est en réalité un dérivé acétylé chimiquement fragile, dont l'injection immunise les souris, sans déclancher toutefois l'apparition de précipitines, cette propriété immunisante disparaissant par désacétylation du polysaccharide. Quoi qu'il en soit, une opposition très nette demeure entre les propriétés régulièrement et énergiquement immunisantes du microbe total et les propriétés antigéniques nulles ou atténuées que présentent les polysaccharides spécifiques.

Dès 1923, Zinsser et Parker firent des observations analogues sur diverses bactéries autres que le pneumocoque et proposèrent le nom d'antigènes « résiduels » pour les haptènes polysaccharidiques microbiens. Depuis cette époque, des polysaccharides spécifiques ont été retirés d'un grand nombre de bactéries et leurs propriétés biologiques et chimiques ont été étudiées par de très nombreux auteurs qui retrouvèrent toujours la même opposition que dans le cas du pneumocoque, entre les propriétés antigé-

niques énergiques du microbe total et l'action nulle ou peu prononcée du polysaccharide spécifique correspondant, sur l'animal.

Les microbes du groupe colibacille-paratyphique-typhique ont été souvent étudiés de ce point de vue. Nous citerons par exemple les travaux de Furth et Landsteiner (1), de Casper (2), de Meyer (3), de White (4), de Combiesco, Stamatesco et Soru (5). White a fait connaître une méthode fort pratique pour préparer les polysaccharides spécifiques renfermés dans les bactéries du groupe du colibacille. Les microbes sont chauffés « à reflux » pendant trois heures, avec une solution de ClNa à 9 ‰ acidulée à N/5 par de l'acide acétique. On filtre, on ajuste le *p*H à 7,3 et on filtre à nouveau. On obtient de la sorte un liquide jaune paille renfermant en solution l'antigène résiduel, en mélange évidemment avec de très nombreux autres corps dissous. On peut purifier les polysaccharides spécifiques en les précipitant par l'alcool. Enfin White a mis en relief ce fait important que, dans le groupe des salmonellas, les formes S (smooth) libèrent seules des polysaccharides spécifiques, les formes R (rough) en étant dépourvues.

*
**

Depuis trois ans, nous poursuivons des recherches sur la composition chimique de la cellule bactérienne (6), en nous efforçant de n'utiliser que des techniques aussi peu brutales que possible pour séparer, sans dénaturation, les divers constituants. Nous avons montré que par action directe de l'acide trichloracétique employé comme réactif précipitant des protéines, il est possible d'extraire des microbes de nombreuses substances « acido-solubles » dont nous avons commencé l'étude en nous attachant spécialement à la caractérisation des composés phosphorés et des corps puriques. Chemin faisant, nous nous sommes aperçus que certaines bactéries donnent un extrait trichloracé-

(1) Furth (J.) et Landsteiner (K.) : *Journ. exp. Med.*, 1928, t. 47, p. 171, et 1929, t. 49, p. 727.

(2) Casper (W) : *Zeitschrft. f. Hyg. Infektkr.*, 1928, t. 109, p. 170.

(3) Meyer (K.) : *Zeit. Imm. Forsch.*, 1931, t. 71, p. 331.

(4) White (P.-B.) : *Journ. Path. Bact.*, 1927, t. 30, p. 113 ; 1928, t. 31, p. 483; 1929, t. 32, p. 85; 1931, t. 34, p. 325.

(5) Combiesco (D.), Stamatesco (S.) et Soru (E.) : *Arch. roumaines Path. exp. Microbiol.*, 1930, t. 3, p. 189.

(6) Boivin (A.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 112, pp. 76, 611 et 1009 ; 1933, t. 114, pp. 302 et 305. *Arch. roumaines de Path. exp. Microbiol.*, 1934, t. 7, p. 95.

tique présentant une opalescence qui résiste à toute filtration et à toute centrifugation même à très grande vitesse (10.000 tours par minute). Nous avons pu nous rendre compte que cette opalescence est due à la présence d'une substance non dialysable, de nature glucidique et susceptible de donner à haute dilution des réactions de précipitation avec les sérums spécifiques (1). Nous avons pensé tout d'abord avoir simplement retrouvé par une technique nouvelle les haptènes polysaccharidiques, mais nous nous sommes convaincus bientôt que les substances préparées par nous présentent de tout autres propriétés physiques, chimiques et biologiques que ces haptènes. En particulier, et contrairement aux haptènes, elles sont à la fois toxiques pour l'animal et antigéniques au sens plein du terme, puisque leur injection au lapin déclanche l'apparition d'anticorps variés (2). Nous avons pu déceler la présence de telles substances chez de nombreuses bactéries : b. Eberth, b. paratyphique A et B, b. d'Aertrycke, b. de Gaertner, colibacille, b. de Shiga, Proteus, vibrion cholérique, bactéridie charbonneuse, b. pyocyaneus, b. prodigiosus, b. subtilis, etc... (3). Dans quelques notes préliminaires (4), nous avons exposé quelles sont les propriétés chimiques et biologiques les plus saillantes de ces substances antigéniques. Dans le présent travail, nous nous proposons de donner le détail des expériences que nous avons effectuées sur les antigènes retirés du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, ces deux bactéries ayant constitué notre matériel d'études le plus fréquent, en insistant avant tout sur les propriétés biologiques de ces corps, nous réservant de revenir ultérieurement sur leur étude chimique. Pour la bonne intelligence de notre exposé, nous croyons utile de résumer tout d'abord l'essentiel de nos résultats et de nos conclusions et de préciser certaines appellations.

(1) Boivin (A.), Mesrobeanu (I.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 113, p. 490.

(2) Boivin (A.), Mesrobeanu (I.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 114, p. 307.

(3) Nous avons cru tout d'abord (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 115, p. 306) que le b. de Gaertner n'est pas susceptible de libérer une substance antigénique sous l'action de l'acide trichloracétique, et cela contrairement à son si proche voisin le b. d'Aertrycke. Nous avons bientôt reconnu que nous travaillions sur une forme S. du b. d'Aertrycke et sur une forme R du d. de Gaertner, et que seules les formes S des deux bactéries en question renferment la substance antigénique.

(4) Boivin (A.), en collaboration avec Mesrobeanu (L.), Mesrobeanu (I.) et Nestoresco (B.) : *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 115, pp. 304, 306 et 309 ; 1934, t. 117, pp. 271 et 273. *C. R. Ac. Sc.*, 1934, t. 198, pp. 2124 et 2211.

Antigènes « résiduels » et antigènes « complets » préparés à partir du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner.

Lorsqu'on chauffe des bactéries avec de l'acide trichloracétique dilué selon la technique de White, on libère de l'antigène « résiduel » dont les propriétés sont les suivantes : ce corps donne des solutions non opalescentes; il dialyse lentement à travers le collodion; il libère en abondance des sucres à l'hydrolyse acide, mais ne libère pas d'acides gras; il n'est pas toxique; il est spécifique en ce sens que ses solutions précipitent à haute dilution par le sérum antimicrobien correspondant; il n'est pas antigénique à proprement parler, puisque son injection à l'animal ne déclanche l'apparition d'aucun anticorps.

Lorsqu'on traite les bactéries à froid par l'acide trichloracétique et qu'on dialyse l'extrait obtenu, on prépare selon notre technique la substance antigénique dont voici les propriétés : ce corps donne des solutions opalescentes; il ne dialyse absolument pas à travers le collodion; il n'est pas de nature protéique et ne renferme qu'une petite quantité d'azote (de l'ordre de 2 %) en même temps qu'une petite quantité de phosphore; il libère en abondance des sucres et des acides gras à l'hydrolyse acide; il est nettement toxique pour l'animal; il est spécifique puisqu'il précipite à haute dilution par le sérum antimicrobien correspondant; il est antigénique au sens plein du terme, car son injection à l'animal déclanche :

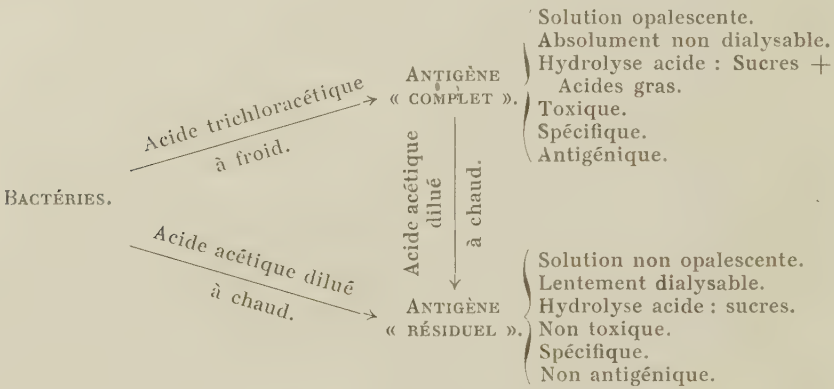
1° L'apparition d'anticorps dans le sérum : précipitines valables aussi bien contre la substance antigénique que contre l'antigène résiduel et agglutinines vis-à-vis du microbe vivant;

2° La création d'un état de résistance de l'animal à l'action toxique de la substance antigénique et du microbe vivant.

Il paraît convenable de nommer antigène « complet » cette substance nouvelle, pour bien la distinguer de ce qu'on appelle classiquement antigène « résiduel ».

L'antigène complet est fragile : si on le chauffe avec de l'acide acétique même très dilué, il se clive en un précipité qui contient les acides gras et en une solution renfermant en dissolution une substance présentant toutes les propriétés chimiques et biologiques de l'antigène résiduel. Ce clivage détruit la toxicité et le pouvoir antigénique. Il apparaît donc que l'antigène résiduel, tel qu'on le prépare par la technique de White en chauffant les bactéries avec de l'acide acétique dilué, résulte de la décompo-

sition de l'antigène complet renfermé dans les bactéries. On peut schématiser comme suit les relations existant entre antigène complet et antigène résiduel :



L'antigène complet et l'antigène résiduel résultant de sa décomposition existent seulement dans la forme S du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, et manquent dans les formes R des mêmes germes.

Nous avons utilisé, comme souche initiale de b. d'Aertrycke S et comme souche initiale du b. de Gaertner R, celles qui existent dans la collection de l'Institut de sérums et vaccins « Professeur Cantacuzène » de Bucarest. Comme b. d'Aertrycke R, nous avons employé à la fois une souche provenant d'une transformation spontanée de la forme S ci-dessus indiquée, et surtout une souche reçue du « Lister Institute » de Londres, d'où nous avons fait venir également le b. de Gaertner S sur lequel nous avons travaillé. La plupart de ces souches renfermaient un mélange de formes S et R que nous nous sommes efforcés de séparer.

A partir de chaque souche, nous avons préparé des suspensions bactériennes très diluées qui nous ont servi à obtenir des colonies isolées sur gélose. Nous avons choisi une colonie très typique du type S ou du type R selon le cas, que nous avons repiquée sur gélose. Cette culture sélectionnée a été dispersée en colonies isolées et nous avons choisi à nouveau une colonie très typique que nous avons repiquée. Deux fois encore, nous avons répété cette dispersion suivie de sélection d'une colonie. Nous avons obtenu de la sorte des souches donnant des colonies toutes identiques et dont les caractères restent constants à travers les repiquages et cela au moins pendant un certain temps. Mais il

est bon de vérifier très souvent les caractères des cultures pour dépister une variation toujours possible. Ainsi nous avons vu une culture de b. d'Aertrycke S, provenant d'une souche sélectionnée comme il a été dit et conservée sur culot de gélose à la glacière pendant trois mois, se transformer largement en forme R : les colonies dispersées sur gélose répondaient alors à deux types appartenant l'un à la forme S, l'autre à la forme R. Et il nous a été donné à plusieurs reprises d'assister ainsi, au cours de nos expériences, au passage du b. d'Aertrycke de la forme S à la forme R.

Nous avons retenu, comme caractères différentiels entre la forme S et la forme R, ceux qui ont été décrits par Arkwright au cours de ses études classiques sur les variations des bactéries du groupe colibacille, — bacille typhique, — bacille dysentérique : la forme S (smooth) donne des colonies unies, lisses sur gélose ordinaire et une culture diffuse en bouillon; elle n'est pas auto-agglutinable dans le chlorure de sodium à 9 ‰. La forme R (rough) donne des colonies rugueuses, granulaires, sur gélose ordinaire et une culture avec dépôt abondant en bouillon; elle est auto-agglutinable dans le chlorure de sodium à 9‰. Nous avons utilisé comme caractère supplémentaire l'action de la trypaflavine qui agglutine la forme R et n'agglutine pas la forme S (Pampana).

⁂

Peu de temps après notre première publication sur les propriétés chimiques toxiques et antigéniques de la substance extraite du b. d'Aertrycke (1), est apparu un important travail des professeurs Raistrick et Topley, de Londres (2), décrivant l'isolement, par une tout autre technique, d'une substance de propriétés analogues à partir du même bacille. Raistrick et Topley soumettent le b. d'Aertrycke à une digestion par la trypsine kinasée et ils font des précipitations alcooliques fractionnées du produit de digestion. Ils obtiennent ainsi plusieurs fractions dont l'azote varie de 3,64 à 14,06 % et dont aucune sans doute n'est une espèce chimique pure. Mais certaines de ces préparations présentent des propriétés chimiques et biologiques intéressantes, se rapprochant considérablement de celles qui

(1) Boivin (A.), Mesrobeanu (I.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.*, juin 1933, t. 114, p. 307.

(2) Raistrick (H.) et Topley (W.-W.-C.) : *Brit. Journ. exp. Path.*, mars 1934, t. 15, p. 113.

caractérisent la substance isolée par nous. Les fractions actives de Raistrick et Topley ne sont pas de nature protéique et elles libèrent sucres et acides gras à l'hydrolyse acide. Elles sont toxiques pour l'animal, et en injections répétées elles déclanchent l'apparition d'une immunité antibactérienne et la formation d'anticorps spécifiques : précipitines et agglutinines. Les auteurs anglais concluent à l'étroite analogie entre la substance active de leurs préparations et celle que nous avons isolée du bacille d'Aertrycke. « There can, we think, be little doubt that the fraction isolated from bact. aertrycke by Boivin and his colleague (1933-1934) by extraction with trichloracetic acid is either identical with our closely related to the active immunizing fraction that we have izolated by another method (1). » Cette conclusion nous paraît tout à fait justifiée.

Le professeur Delafield (2) a découvert une intéressante propriété hyperglycémiante aux préparations de Raistrick et Topley, et Martin (3) a fait une étude soignée de la toxicité pour la souris des mêmes préparations. Les recherches des Anglais confirment donc nos propres conclusions, et il y a vraiment tout lieu de penser que la substance immunisante qu'on peut extraire ainsi des microbes, par des techniques aussi radicalement différentes, représente un constituant bactérien véritable, dont le rôle doit être fondamental dans le déclanchement des phénomènes d'immunité, et non pas simplement un quelconque « artefact » de préparation.

TECHNIQUES POUR LA PRÉPARATION DE L'ANTIGÈNE COMPLET ET DE L'ANTIGÈNE RÉSIDUEL

Préparation de l'antigène complet.

Notre technique générale de préparation du complexe antigénique se résume dans les temps suivants : laver à l'eau les bactéries par centrifugation à grande vitesse; les traiter par un déprotéinisant aqueux; se débarrasser des cadavres microbiens par centrifugation à grande vitesse; éloigner par dialyse le déprotéinisant et les nombreuses substances non colloïdales qui ont diffusé hors des microbes.

(1) P. 127 du mémoire ci-dessus (12).
(2) Delafield (M.-E.) : *Brit. Journ. exp. Path.*, 1934, t. 15, p. 130.
(3) Martin (A.-R.) : *Brit. Journ. exp. Path.*, 1934, t. 15, pp. 137.

Nous avons étudié l'action de toute une série de réactifs déprotéinisants, dans le but de rechercher celui qui est susceptible de donner le meilleur rendement en substance antigénique. Nos expériences ont été effectuées avec le b. d'Aertrycke traité pendant trois heures par les acides : trichloracétique, sulfosalicylique, picrique, tungstique, phosphotungstique; ainsi que par divers sels métalliques : sels de cuivre, de plomb, de zinc, de mercure, d'uranyle, employés parallèlement en milieu neutre, en milieu acidulé par l'acide acétique et en milieu acidulé par l'acide chlorhydrique.

Dans tous les extraits dialysés, nous avons pu déceler la présence du complexe antigénique et nous avons noté un parallélisme constant entre : l'intensité du cône de Tyndall, la concentration en substances dissoutes, la concentration en sucres réducteurs libérés à l'hydrolyse acide et l'intensité des précipitations données par le sérum antimicrobien. Les divers déprotéinisants utilisés permettent donc tous d'isoler le complexe antigénique, mais les rendements obtenus sont très variables. L'acide trichloracétique conduit au rendement maximum. Le chlorure mercurique en milieu chlorhydrique, l'acide sulfosalicylique et l'acide picrique (sous forme de réactif citro-picrique d'Esbach), viennent ensuite avec des déficits allant de 30 à 60 % par rapport à l'extraction trichloracétique. Les autres réactifs déprotéinisants donnent des rendements bien plus mauvais encore. L'acide trichloracétique est donc le réactif à employer. Sous son action, les bactéries ne perdent rien de leur morphologie apparente et restent électivement colorables par la méthode de Gram.

Lorsqu'on fait varier, de quelques minutes à plusieurs jours, la durée du contact (à la glacière) entre les microbes et l'acide trichloracétique, on ne note pas de changement dans l'ordre de grandeur du rendement en substance antigénique. En prolongeant au delà d'une semaine l'action du réactif, on assiste à une certaine dénaturation du complexe qui flocule au cours de la dialyse. Nous nous sommes arrêtés à un contact de trois heures et notre technique peut se détailler comme suit :

Les microbes sont cultivés sur gélose ordinaire pendant vingt heures à 37°, et on les recueille en lavant la surface du milieu avec de l'eau distillée. On filtre sur gaze la suspension bactérienne obtenue et on la centrifuge à grande vitesse (15 minutes à 8000 tours). On rejette le liquide et on remet les bactéries en suspension dans de l'eau distillée, après quoi on centrifuge à nouveau. On répète une fois encore ce lavage. La purée bacté-

rienne obtenue est mise en suspension dans l'eau et diluée de telle façon que 1 centimètre cube correspond à 0,2 gr. de microbes frais; on ajoute enfin un égal volume d'acide trichloracétique demi-normal, on agite un instant et on abandonne pendant trois heures à la glacière. On centrifuge à grande vitesse (30 minutes à 8000 tours), on recueille le liquide jaune et opalescent qui surnage les cadavres bactériens, on le centrifuge à nouveau à grande vitesse et on vérifie finalement sur quelques centimètres cubes qu'il ne laisse rien déposer par une nouvelle centrifugation à très haute vitesse (10.000 tours). 1 centimètre cube de ce liquide correspond à 0,1 gr. de microbe frais. L'extrait trichloracétique est alors réparti dans des sacs de collodion (collodion acétique à 5 % coagulé par l'eau) et on dialyse pendant deux jours contre un courant d'eau ordinaire. On acidule alors légèrement le contenu des sacs par adjonction d'une trace d'acide chlorhydrique (virage du rouge de méthyle) et on dialyse pendant un jour contre un très grand volume d'eau distillée. On obtient de la sorte une solution pratiquement neutre, incolore et opalescente du complexe antigénique. Une centrifugation à très haute vitesse ne doit déceler l'existence d'aucun précipité. Une légère dilution de l'extrait s'est effectuée au cours de la dialyse, par entrée d'eau dans les sacs. Pour connaître la richesse en complexe antigénique d'une solution dialysée, on pèse à la microbalance l'extrait sec obtenu en évaporant 1 centimètre cube à 100°. On obtient usuellement des chiffres de l'ordre de 1 milligramme par centimètre cube dans le cas des formes S du b. d'Aertrycke et du b. de Gartner. Si l'on veut stériliser la solution, on la filtre sur bougie Chamberland L_3, ce qui conduit à une certaine perte par adsorption sur la porcelaine. Si l'on désire concentrer la substance, on peut évaporer une partie de l'eau dans le vide sulfurique à 37°, mais plus commodément on aboutit au même résultat par la technique suivante : on acidule légèrement la solution antigénique par une trace d'acide chlorhydrique, et on lui ajoute 4 fois son volume d'acétone pure ou d'alcool à 95°. On agite jusqu'à floculation de l'antigène, qu'on recueille par centrifugation et qu'on dissout dans l'eau. La solution obtenue est dialysée pendant un jour contre un grand volume d'eau distillée pour éliminer les dernières traces d'alcool ou d'acétone. L'alcool ou l'acétone ayant servi à la précipitation sont récupérés par distillation fractionnée sur colonne de Vigreux. Si l'on veut préparer l'antigène complet à l'état de substance solide et sans lui faire subir de dénaturation,

on peut évaporer dans le vide sulfurique à 37° une de ses solutions ou bien précipiter l'antigène complet d'une de ses solutions par l'acétone ou par l'alcool, recueillir le précipité par centrifugation, le laver à l'éther et le dessécher dans le vide à 37°, toutes les opérations étant conduites aussi rapidement que possible. On obtient une substance écailleuse, légèrement colorée en jaunâtre, se gonflant puis se dissolvant bientôt dans l'eau.

Il convient de rechercher si, dans les conditions que nous venons d'exposer, l'acide trichloracétique est capable d'extraire la totalité du complexe antigénique existant dans les microbes. Comme nous l'avons signalé dans l'introduction du présent travail, Raistrick et Topley ont préparé, à partir d'une digestion trypsique du b. d'Aertrycke, une fraction qui, par ses propriétés toxiques, spécifiques et antigéniques, se rapproche considérablement de la substance retirée antérieurement par nous du même microbe. Nous nous sommes demandé si une action préalable de la trypsine sur la cellule microbienne ne faciliterait pas l'extraction de l'antigène par l'acide trichloracétique et si, par cet artifice, le rendement ne pourrait pas être augmenté. L'expérience a confirmé notre attente.

Une suspension bactérienne renfermant 0,2 gr. de microbes frais par centimètre cube est divisée en deux parts égales. L'une d'elles est traitée directement par l'acide trichloracétique pendant que l'autre subit, avant son traitement par l'acide, une digestion par la trypsine kinasée prolongée pendant une semaine à 37°, le milieu étant amené à *p*H = 8,5 et du toluène étant utilisé comme antiseptique. Le complexe antigénique résiste fort bien à l'action de la trypsine et la digestion préalable du microbe double presque le rendement de l'extraction trichloracétique, comme le montre le tableau I (voir p. 56).

Il apparaît donc comme bien certain que la seule action de l'acide trichloracétique est incapable de séparer la totalité de l'antigène complet du coagulum des protéines microbiennes. Il y a tout lieu de croire que la digestion préalable et très poussée de ces protéines doit lever tout obstacle à une extraction complète, et l'expérience vérifie cette attente.

Quand on traite les bactéries par l'acide trichloracétique, on obtient un extrait qui présente un certain pouvoir réducteur vis-à-vis des réactifs servant aux dosages des sucres et ce pouvoir réducteur augmente beaucoup après hydrolyse acide. Dans cet extrait, on peut rencontrer : 1° des sucres réducteurs libres (en petite quantité»; 2° des glucides non spécifiques diffusibles à

TABLEAU I

Nombre de milligrammes d'antigène retirés de 100 milligrammes de microbes secs

Traitement subi par le microbe	*B. d'Aertrycke*		*B. de Gaertner*	
	Forme S	Forme R	Forme S	Forme R
TRYPSINE + AC. TRICHLORAC. :				
Exp. n° 1	8,8	0	7,1	0
» » 2	7,3	0	7,3	0
» » 3	9,3	0	8,2	0
Moyenne	8,5	0	7,5	0
ACIDE TRICHLORAC. SEUL :				
Exp. n° 1	5,7 (65 %)	0	4,3 (61 %)	0
» » 2	4,7 (64 %)	0	5,2 (71 %)	0
» » 3	5,4 (58 %)	0	5,0 (61 %)	0
Moyenne	5,3 (62 %)	0	4,8 (64 %)	0

N. B. — Les pourcentages entre parenthèses indiquent le rendement donné par l'extraction trichloracétique simple, relativement au rendement auquel on aboutit après digestion.

travers le collodion et dont la nature reste à préciser; 3° l'antigène complet, substance glucidique spécifique et non diffusible. Les glucides des deux dernières catégories, non réducteurs directement, libèrent des sucres réducteurs à l'hydrolyse acide. Les formes S des deux bactéries étudiées libèrent les trois espèces de glucides, alors que l'antigène complet manque dans les formes R. Entre l'extrait obtenu par action combinée de la trypsine et de l'acide sur les formes S et l'extrait trichloracétique ordinaire des mêmes bactéries, on note comme différence essentielle une plus forte teneur du premier en antigène complet. Lorsqu'on chauffe les bactéries avec de l'acide acétique dilué selon White (1), on en extrait les sucres libres, les glucides acido-solubles non spécifiques et l'antigène résiduel qui, on s'en souvient, n'est autre qu'un glucide spécifique libéré par la décomposition de l'antigène complet renfermé dans les bactéries S. Or, si l'on soumet à l'hydrolyse acide (chauffage à reflux à 100° pendant 2 heures, le milieu étant normal en SO^4H^2) les extraits obtenus en traitant les microbes soit par la trypsine et par l'acide trichlo-

(1) Voir l'introduction.

racétique, soit selon White, puisqu'on dose les substances réductrices totales (selon Hagedorn et Jensen, après défécation au mercure), on note sensiblement la même teneur en glucides totaux pour les deux extraits, et cela qu'on opère sur une forme S ou sur une forme R. Il apparaît donc comme très vraisemblable que l'action conjuguée de la digestion et du déprotéinisant libère la quasi-totalité de l'antigène complet renfermé dans les formes S. Le tableau II résume nos résultats.

TABLEAU II

Nombre de milligrammes de sucre (exprimés en glucose) libérés à l'hydrolyse acide d'un volume d'extrait correspondant à 100 milligrammes de microbes frais

Nature des extraits	*B. d'Aertrycke*		*B. de Gaertner*	
	Forme S	Forme R	Forme S	Forme R
MICROBES TRAITÉS SELON WHITE				
Sucre total :				
Exp. n° 1	1,242	0,595	1,407	0,575
» » 2	1,197	0,618	1,284	0,604
» » 3	1,137	0,548	1,465	0,522
Moyenne	1,192	0,587	1,385	0,567
MICR. TRAITÉS PAR LA TRYPSINE, PUIS PAR L'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE				
a) *Sucre total :*				
Exp. n° 1	1,125	0,418	1,251	0,543
» » 2	1,021	0,513	1,195	0,509
» » 3	0,994	0,409	1,300	0,475
Moyenne	1,047	0,447	1,249	0,509
b) *Sucre non engagé dans l'antigène complet :*				
Exp. n° 1	0,344	0,418	0,493	0,543
» » 2	0,396	0,513	0,354	0,509
» » 3	0,238	0,409	0,421	0,475
Moyenne	0,326	0,447	0,423	0,509
c) *Sucre engagé dans l'antigène complet :*				
Exp. n° 1	0,781	0	0,758	0
» » 2	0,625	0	0,841	0
» » 3	0,756	0	0,879	0
Moyenne	0,721	0	0,826	0

Préparation de l'antigène résiduel.

Une fois en possession d'une solution d'antigène complet, il est aisé de préparer l'antigène résiduel en mettant en œuvre l'action de l'acide acétique à chaud, comme la chose a été expliquée dans l'introduction. Voici les détails techniques :

On acidule une solution neutre d'antigène complet, en ajoutant pour chaque fraction de 100 centimètres cubes, 1 centimètre cube d'acide acétique cinq fois normal. Cela fait, on chauffe « à reflux » au bain-marie bouillant pendant deux heures. On refroidit sous un courant d'eau et on filtre sur filtre serré, de façon à éliminer le précipité blanc qui s'est formé. On obtient une liqueur incolore et absolument limpide qu'on place dans une capsule pour l'évaporer à sec au bain-marie bouillant. Le résidu jaunâtre adhérant au fond de la capsule est épuisé par l'alcool bouillant pour éliminer une petite quantité d'une substance jaune rougeâtre soluble dans l'alcool et qui souille le polysaccharide spécifique. Cet épuisement terminé, on évapore à nouveau à sec, on reprend par un petit volume d'eau bouillante dans lequel le polysaccharide se dissout, sauf un petit résidu qu'on éloigne par centrifugation, et la solution absolument limpide et très légèrement jaunâtre est précipitée par adjonction de quatre fois son volume d'alcool à 95°. On recueille par centrifugation le précipité qui s'est formé, on le redissout dans un petit volume d'eau, et on répète la précipitation alcoolique; finalement on lave le précipité par centrifugation et successivement à l'alcool à 80°, à l'alcool à 95°, à l'alcool-éther, puis à l'éther pur, et on le sèche à l'étuve à 50°. On obtient une poudre blanche très légère, immédiatement soluble dans l'eau, en donnant une liqueur non opalescente et pratiquement incolore. Le rendement de l'opération est bon : on isole par cette technique la grande majorité du glucide spécifique primitivement engagée en antigène complet. On stérilise aisément et sans perte notable une solution d'antigène résiduel en la filtrant sur bougie Chamberland L_3.

PROPRIÉTÉS TOXIQUES DE L'ANTIGÈNE COMPLET

L'antigène résiduel est dépourvu de toute toxicité. On peut en injecter 10 à 20 milligrammes dissous dans très peu d'eau, soit dans le péritoine d'une souris, soit dans le péritoine ou dans les veines d'un lapin, sans déclancher aucun phénomène toxique. Par contre, l'antigène complet se montre très nettement toxique pour la souris et encore plus pour le lapin, et cette toxicité résiste parfaitement bien au chauffage de la solution pendant 30 minutes à l'autoclave à 120°, et elle ne paraît pas s'atténuer par contact prolongé avec le formol à 37°.

Une dose intrapéritonéale de 0,5 mgr. d'antigène complet, extrait d'une forme S. du b. d'Aertrycke ou du b. de Gaertner, tue toujours la souris en quelques heures; une dose de 0,1 mgr. la tue en 24-48 heures, et il nous est arrivé parfois de tuer encore quelques souris avec 0,02 ou 0,01 mgr. seulement, mais la chose est exceptionnelle. Le lapin apparaît comme bien plus sensible, puisqu'une dose de 2 milligrammes dans le péritoine suffit en général à tuer un animal de 2 kilogrammes environ. L'antigène complet est également toxique pour le cobaye et pour le rat.

L'antigène complet, qui constitue près de 10 % du poids sec des microbes de forme S, reste étroitement lié à la cellule bactérienne. Les lavages à l'eau, que nous faisons subir à nos bactéries avant de les attaquer par l'acide trichloracétique, n'enlèvent que de très petites quantités de cet antigène, et dans les cultures sur bouillon, on ne retrouve que des traces de substances spécifiques acido-solubles ayant diffusé hors des bactéries (1). Il convient donc de se demander quel rôle joue l'antigène complet dans la constitution de l'endotoxine microbienne.

Nous avons expérimenté sur des bactéries provenant d'une culture de 20 heures à 37° sur gélose et appartenant soit à la forme S, soit à la forme R du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, ces bactéries étant au préalable soigneusement lavées à l'eau. Nous avons préparé parallèlement à partir de ces diverses bac-

(1) Cultures de bouillon de 24 heures ou d'une semaine. Centrifuger à 10.000 tours pour éliminer les bactéries; se débarrasser des albumines par l'acide trichloracétique; neutraliser exactement l'excès d'acide, et mettre finalement en contact avec le sérum antimicrobien correspondant.

téries : un extrait trichloracétique simplement neutralisé dont 1 centimètre cube provient de 0,1 gr. de microbes frais; un extrait trichloracétique dialysé jusqu'à ce qu'il ne contienne plus en solution que l'antigène complet, et tel, lui aussi, que 1 centimètre cube provienne de 0,1 gr. de microbes frais; une suspension bactérienne chauffée 30 minutes à 100°, et telle que 1 centimètre cube contienne 0,05 gr. de bactéries S ou 0,10 gr. de bactéries R. Ces divers produits et leurs dilutions ont été injectés dans le péritoine de souris, et les tableaux III, IV, V, VI, exposent nos résultats. (Les abréviations M. 24 h., M. 48 h., V., indiquent respectivement que l'animal est mort en moins de 24 heures, ou moins de 48 heures, ou qu'il a survécu.) L'injection dans le péritoine d'une souris, de 0,5 cc. d'une solution témoin d'acide trichloracétique N/4 soigneusement neutralisée, déclanche en général quelques troubles moteurs légers dans les pattes postérieures, phénomènes de caractère tout passager qui disparaissent en quelques heures. Les animaux survivent toujours. De plus fortes doses agissent comme hypnotiques et des doses plus élevées encore peuvent tuer l'animal.

TABLEAU III

Toxicité (souris) du *b. d'Aertrycke forme S* et de ses extraits

Volume injecté en cc.	Suspension de microbes lavés et tués par 30 min. à 100° (1 cc. = 0,05 gr. de microbes frais)	Extrait trichloracétique neutralisé (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)	Extrait trichloracétique dialysé ne renfermant plus que l'antigène complet (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais = 1,21 mgr. d'antigène complet).
0,5	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.
0,2	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.
0,1	2 M. 24 h. — 1 M. 48 h.	1 M. 24 h. — 2 M. 48 h.	3 M. 48 h.
0,05	1 M. 24 h. — 1 M. 48 h. 1 V.	1 M. 48 h. — 2 V.	3 V.
0,02	1 M. 24 h. — 1 M. 48 h. 1 V.	3 V.	1 M. 48 h. — 2 V.
0,01	1 M. 48 h. — 2 V.	3 V.	3 V.
0,005	3 V.	3 V.	3 V.

4 témoins, injectés seulement avec 0,5 cc. d'une solution d'acide trichloracétique N/4 soigneusement neutralisée, ont survécu

TABLEAU IV

Toxicité (souris) du *b. d'Aertrycke forme R* et de ses extraits

Volume injecté en cc.	Suspension de microbes lavés et tués par 30 min. à 100° (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)		Extrait trichloracétique neutralisé (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)	
	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 1	Exp. n° 2
0,5	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 V.	3 V.
0,2	3 M. 24 h.	2 M. 24 h. — 1 M. 48 h.	3 V.	3 V.
0,1	1 M. 24 h. — 1 M. 48 h. 1 V.	1 M. 24 h. — 2 V.	3 V.	3 V.
0,05	3 V.	3 V.	3 V.	3 V.

3 témoins, injectés seulement avec 0.5 cc. d'une solution d'acide trichloracétique N/4 soigneusement neutralisée, ont survécu.

TABLEAU V

Toxicité (souris) du *b. de Gaertner forme S* et de ses extraits

Volume injecté en cc.	Suspension de microbes lavés et tués par 30 min. à 100° (1 cc. = 0,05 gr. de microbes frais)	Extrait trichloracétique neutralisé (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)	Extrait trichloracétique dialysé ne renfermant plus que l'antigène complet (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais = 0,97 mmgr. d'antigène complet).
0,5	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.
0,2	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.
0,1	3 M. 24 h.	2 M. 24 h. — 1 M. 48 h.	2 M. 24 h. — 1 V.
0,05	3 M. 24 h.	1 M. 24 h. — 2 V.	1 M. 48 h. — 2 V.
0,02	2 M. 24 h. — 1 M. 48 h.	1 M. 48 h. — 2 V.	2 M. 48 h. — 1 V.
0,01	1 M. 48 h. — 2 V.	3 V.	3 V.
0,005	3 V.	3 V.	3 V.

3 témoins, injectés seulement avec 0,5 cc. d'une solution d'acide trichloracétique N/4 soigneusement neutralisée, ont survécu

TABLEAU VI

Toxicité (souris) du *b. de Gaertner forme R* et de ses extraits

Volume injecté en cc.	Suspension de microbes lavés et tués par 30 min. à 100° (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)			Extrait trichloracétique neutralisé (1 cc. = 0,10 gr. de microbes frais)		
	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3
0,5	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 M. 24 h.	3 V.	3 V.	3 V.
0,2	1 M. 48 h. 2 V.			3 V.		
0,1	1 M. 48 h. 2 V.			3 V.		
0,05	3 V.	3 V.	3 V.	3 V.	3 V.	3 V.

3 témoins, injectés seulement avec 0,5 d'une solution d'acide trichloracétique N/4 soigneusement neutralisée, ont survécu.

Si l'on considère les formes R du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, on ne note aucune toxicité de leur extrait trichloracétique. Il n'existe donc pas chez ces microbes de substance endotoxique acido-soluble. Par contre, le microbe total est nettement toxique, sa toxicité étant due soit à une protéine, soit à un corps restant étroitement lié aux protéines lorsqu'on traite le microbe par le réactif déprotéinisant. Lorsqu'on passe aux formes S correspondantes, on trouve une toxicité de même ordre de grandeur en ce qui concerne l'extrait trichloracétique simplement neutralisé et le même extrait privé par dialyse de tout ce qui ne constitue pas l'antigène complet. Il apparaît de là que l'antigène complet est le seul constituant acido-soluble de l'endotoxine microbienne des formes S. Cette conclusion est pleinement confirmée par l'expérience suivante. On neutralise l'extrait trichloracétique et on en dialyse 100 centimètres cubes contre 10 centimètres cubes d'eau distillée à travers une paroi de haute perméabilité, mais susceptible de retenir complètement l'antigène (imprégner dans le vide un support de cellulose avec du collodion acétique à 0,5 %, puis coaguler par l'eau). Ni dans le cas du b. d'Aertrycke S, ni dans le cas du b. de Gaertner S, on ne peut noter le passage dans l'eau d'aucune substance capable de tuer la souris et cela même après deux jours de dialyse. Lorsqu'on veut comparer la toxicité du microbe total S et la toxicité de son extrait trichloracétique, il faut tenir compte (voir tableau I) que l'acide n'extrait pas beau-

coup plus de la moitié de l'antigène. Aussi avons-nous utilisé des suspensions bactériennes dont 1 centimètre cube correspondait seulement à 50 milligrammes de microbes frais, pendant que 1 centimètre cube d'extrait trichloracétique correspondait à 100 milligrammes de microbes frais. Il semble bien à la lecture des tableaux III et V que le microbe total renferme quelque substance toxique étroitement liée aux protéines, en addition à l'antigène complet passant seul en solution dans l'acide trichloracétique. Pourtant l'expérience décisive reste à faire qui séparerait complètement ces deux principes toxiques. Il est aisé d'aboutir, comme nous l'avons vu, à une extraction complète de l'antigène, mais seulement au prix de la digestion des albumines microbiennes.

En résumé, en ce qui concerne les formes R, il est certain qu'à une endotoxine non acido-soluble (endotoxine protéique) ne s'ajoute aucune endotoxine acido-soluble (endotoxine non protéique). Dans le cas des formes S, il existe une endotoxine acido-soluble non protéique qui n'est autre que l'antigène complet, et il est très probable qu'il vient s'y ajouter une endotoxine non acido-soluble (endotoxine protéique).

La toxicité de l'antigène complet étant établie, il convient de rechercher quelle est son action sur l'animal. La mort survient entre quelques heures et 48 heures, selon la dose; nous n'avons jamais constaté une mort plus tardive. Elle n'est généralement précédée d'aucun phénomène à caractère dramatique : l'animal reste immobile, il présente de la diarrhée et sa respiration est accélérée. A l'autopsie, on ne note rien de très saillant : une certaine congestion des viscères abdominaux et sur les coupes une congestion plus ou moins intense des organes.

Divers auteurs, Menten et Manning (1), Zecher et Goodell (2), Menten et King (3), Delafield (4), ont démontré que certaines bactéries à Gram négatif, et parmi elles tout spécialement le b. d'Aertrycke, sont susceptibles de déclancher une hyperglycémie marquée, lorsqu'on injecte au lapin des corps microbiens tués ou des extraits obtenus à partir de ces corps microbiens.

Tout récemment Delafield (5) vient de prouver que la sub-

(1) Menten (M.-L.) et Manning (H.-M.) : *Journ. infect. Dis.*, 1925, t. 37, p. 400.

(2) Zecker (L.-T.) et Goodell (H.) : *Journ. exp. Med.*, 1925, t. 42, pp. 43 et 57.

(3) Menten (M.-L.) et King (C.-A.) : *Journ. infect. Dis.*, 1930, t. 46, p. 275.

(4) Delafield (M.-E.) : *Journ. Path. and Bact.*, 1931, t. 34, p. 177, et 1932, t. 35, p. 53.

(5) Delafield (M.-E.) : *Brit. Journ. of exp. Path.*, 1934, t. 15, p. 130.

stance hyperglycémiante renfermée dans le b. d'Aertrycke se retrouve dans les préparations antigéniques obtenues par Raistrick et Topley, et dont nous avons parlé dans l'introduction du présent travail. Comme nous l'avons déjà dit, il y a tout lieu de penser que la même substance toxique et antigénique constitue le principe actif de nos préparations et de celles des auteurs anglais. Mais la moindre teneur en azote et la plus haute toxicité de nos préparations nous conduit à penser que l'extrait obtenu à Bucarest est plus concentré en principe toxique et antigénique que celui sur lequel travaillent les Londoniens. En effet Martin (1), étudiant la toxicité des préparations anglaises, doit utiliser un demi-milligramme pour tuer une souris, alors que nous tuons le même animal avec 0,2, 0,1 milligramme de nos préparations. Delafield (2) utilise des doses intrapéritonéales de 2 milligrammes par kilogramme d'animal pour étudier, au cours d'une expérience de 2 jours, l'action des préparations anglaises sur la glycémie du lapin. Avec notre préparation, nous tuons en 24 heures le lapin en lui injectant 1 milligramme par kilogramme seulement.

Il nous a donc paru intéressant de rechercher dans quelle mesure notre préparation est active sur la glycémie du lapin. Nous avons utilisé 13 lapins pesant entre 1900 et 2200 grammes, et la substance antigénique a été injectée par voie intrapéritonéale sous forme d'une solution au millième.

TABLEAU VII

Dose injectée en mgr.	Glycémie initiale (mgr. °/₀)	Lactacidémie initiale (mgr. °/₀)	Glycémie après 2 h. (mgr. °/₀)	Lactacidémie après 2 h. (mgr. °/₀)	Glycémie après 24 h. (mgr. °/₀)
2	105	19	345	135	Mort.
2	117	24	Mort.	Mort.	»
2	98	16	270	143	»
2	114	15	307	97	»
1	107	21	236	110	»
1	125	13	265	92	112
1	102	20	190	105	Mort.
0,5	96	26	156	67	117
0,5	87	15	175	71	111
0,5	113	22	195	81	Mort.
0,5	119	18	189	48	98
0,5	125	26	164	69	108
0,5	88	29	168	83	113

(1) Martin (A.-R.) : *Brit. Journ. of exp. Path.*, 1934, t. 15, p. 137.
(2) Delafield (M.-E.) : *Brit. Journ. of exp. Path.*, 1934, t. 15, p. 130.

Comme le montre le tableau VII, notre préparation présente une action hyperglycémiante et une action hyperlactacidémiante très nettes. En ce qui concerne le mécanisme de l'hyperglycémie, il y a lieu de croire qu'il se produit une décharge d'adrénaline des surrénales avec ses effets habituels sur le glucose et sur l'acide lactique du sang. La lactacidémie élevée déclanche nécessairement chez l'animal un état d'acidose non gazeuse marquée, qui explique les troubles respiratoires que présentent les lapins dans les heures qui suivent l'injection. La respiration est très accélérée, et par la surventilation qui s'installe l'organisme s'efforce d'abaisser suffisamment l'acide carbonique libre du sang pour ramener le *p*H à la normale et compenser l'acidose.

PROPRIÉTÉS SPÉCIFIQUES DE L'ANTIGÈNE COMPLET ET DE L'ANTIGÈNE RÉSIDUEL

Les solutions d'antigène complet et les solutions d'antigène résiduel précipitent par les sérums antimicrobiens préparés avec les formes S, mais ne précipitent pas avec les sérums antimicrobiens préparés avec les formes R correspondantes. Nous utilisons comme sérums antimicrobiens ceux qui sont préparés en vue des réactions d'agglutination. Notre technique de précipitation est la suivante. A 1 centimètre cube de solution à essayer, salée à 9 grammes par litre, on ajoute un dixième de centimètre cube de sérum sans chercher à provoquer le mélange intime des deux liquides, le sérum plus dense venant s'accumuler au fond du tube. On abandonne pendant 2 heures à 37°, après quoi on fait une première lecture; puis on laisse jusqu'au lendemain à la glacière en vue de faire une seconde lecture.

Des solutions d'antigène complet à 1/1000, 1/10.000, 1 100.000, donnent un précipité très net et d'autant plus abondant que la solution est plus concentrée. A des concentrations moindres, on obtient un simple louche qui peut se déceler jusqu'aux dilutions extrêmes de 1/2.000.000 à 1/5.000.000. L'antigène résiduel se comporte d'une manière quelque peu différente. Une solution à 1/1000 ne donne qu'un précipité léger, la précipitation ayant son maximum d'importance aux environs de la dilution à 1/10.000 pour décroître en intensité lorsqu'on atteint 1 100.000 et faire place, au delà, à un louche qui persiste jusque vers la dilution à 1/1.000.000. Une trop grande concentration en antigène résiduel

gène donc la précipitation. Le tableau VIII schématise ces résultats sur l'exemple des substances spécifiques préparées à partir de la forme S du b. d'Aertrycke, le b. de Gaertner donnant des résultats tout à fait analogues.

Ainsi que nous l'avons exposé dans l'introduction, tandis que l'antigène complet ne dialyse pas, même à travers les membranes de haute perméabilité (comme le collodion à 0,5 %), l'antigène résiduel dialyse lentement. Nous avons mis en œuvre ces propriétés pour rechercher si de l'antigène résiduel préformé ne pourrait pas accompagner l'antigène complet existant dans les bactéries des formes S. Notre technique a été la suivante. On a préparé des extraits trichloracétiques et des extraits selon White (1) des formes S et R du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner. Ces extraits ont été neutralisés et une portion de chacun d'eux a été mise à dialyser contre le 1/10 de son volume d'eau distillée, à travers du collodion à 0,5 %. Sur les extraits et sur leurs dialysats, on a pratiqué des précipitations par les sérums antimicrobiens. D'autre part, on a dialysé une portion de l'extrait trichloracétique des formes S, en vue d'obtenir à l'état pur une solution d'antigène complet, et on a chauffé avec de l'acide acétique cette solution d'antigène complet pour la transformer en solution d'antigène résiduel, des précipitations étant effectuées finalement et à titre de comparaison sur les solutions ainsi obtenues d'antigène complet et résiduel, et sur leurs dialysats à travers le collodion à 0,5 %. Les tableaux IX et X renferment nos résultats, les extraits correspondant tous à 100 milligrammes de microbes frais par centimètre cube et ayant été dilués à 1/1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000, dans les réactions de précipitation.

Le fait le plus important qui ressort de nos expériences est l'absence de substances spécifiques dialysables dans l'extrait trichloracétique des formes S du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner. Ces formes ne renferment donc pas de quantités notables d'antigène résiduel *préformé* en addition à l'antigène complet qu'elles contiennent, et l'antigène résiduel obtenu en chauffant les bactéries avec de l'acide acétique, selon White, apparaît comme un « artefact » résultant de la décomposition de l'antigène complet seul présent dans les bactéries en question. Cela s'applique à des cultures de 20 heures où l'autolyse microbienne n'intervient qu'à

(1) Voir introduction.

TABLEAU VIII

Précipitations, par les *sérums antimicrobiens Aertrycke S, et R*, des substances spécifiques préparées à partir du *b. d'Aertrycke S*

Nature de la substance spécifique et du sérum employé	Teneur des solutions en substance spécifique								
	1/1000	1/10 000	1/100 000	1/200.000	1/400.000	1/800 000	1/1 600.000	1/3 200.000	1/6.400.000
ANTIGÈNE COMPLET :									
Sérum anti - Aertrycke S.....	++++++ (pr.)	++++ (pr.)	++ (pr.)	+	+	+	+	±	—
Sérum anti - Aertrycke R.....	—	—	—						
ANTIGÈNE RÉSIDUEL :									
Sérum anti - Aertrycke S.....	++ (pr.)	++++ (pr.)	++ (pr.)	+	+	+	±	—	—
Sérum anti - Aertrycke R.....	—	—	—						

TABLEAU IX

Précipitations des extraits microbiens préparés à partir des *formes S et R du b. d'Aertrycke* (dilutions des extraits)

Extraits microbiens	Sérums antimicrobiens					
	Aertrycke forme S			*Aertrycke forme R*		
	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3
AERTRYCKE FORME S :						
Extrait trichloracétique	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	0	0	0
Son dialysat de 6 h	0	0	0			
Son dialysat de 24 h	0	0	0			
Extrait selon White	± 1/100	+ 1/100 — 1/1000	± 1/100	0	0	0
Son dialysat de 6 h	± 1/10	+ 1/10 — 1/100	± 1/10			
Son dialysat de 24 h	+ 1/10 — 1/100	± 1/100	+ 1/10 — 1/100			
Solution d'antigène complet	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	0	0	0
Son dialysat de 6 h	0	0	0			
Son dialysat de 24 h	0	0	0			
Solution d'antigène complet chauffée avec de l'acide acétique et transformée en solution d'antigène résiduel	+ 1/100 — 1/1000	+ 1/100 — 1/1000	± 1/100	0	0	0
Son dialysat de 6 h	± 1/10	± 1/10	± 1/10			
Son dialysat de 24 h	+ 1/10 — 1/100	± 1/100	+ 1/10 — 1/100			
	Exp. n° 4	Exp. n° 5	Exp. n° 6	Exp. n° 4	Exp. n° 5	Exp. n° 6
AERTRYCKE FORME R :						
Extrait trichloracétique	0	0	0	0	0	0
Extrait selon White	0	0	0	0	0	0

TABLEAU X

Précipitations des extraits microbiens préparés à partir des *formes S et R du b. de Gaertner* (dilutions des extraits)

Extraits microbiens	Sérums antimicrobiens					
	Gaertner forme S			*Gaertner forme R*		
	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3	Exp. n° 1	Exp. n° 2	Exp. n° 3
GAERTNER FORME S :						
Extrait trichloracétique	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	0	0	0
Son dialysat de 6 h.	0	0	0			
Son dialysat de 24 h.	0	0	0			
Extrait selon White	+ 1/100 — 1/1000	+ 1/100 — 1/1000	± 1/1000	0	0	0
Son dialysat de 6 h.	+ 1/1 — 1/10	± 1/10	+ 1/1 — 1/10			
Son dialysat de 24 h.	± 1/10	± 1/100	+ 1/10 — 1/100			
Solution d'antigène complet	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	+ 1/1000 — 1/10.000	0	0	0
Son dialysat de 6 h.	0	0	0			
Son dialysat de 24 h.	0	0	0			
Solution d'antigène complet chauffée avec de l'acide acétique et transformée en solution d'antigène résiduel	± 1/1000	+ 1/100 — 1/1000	± 1/1000	0	0	0
Son dialysat de 6 h.	± 1/10	+ 1/1 — 1/10	± 1/10			
Son dialysat de 24 h.	+ 1/10 — 1/100	+ 1/10 — 1/100	± 1/100			
	Exp. n° 4	Exp. n° 5	Exp. n° 6	Exp. n° 4	Exp. n° 5	Exp. n° 6
GAERTNER FORME R :						
Extrait trichloracétique	0	0	0	0	0	0
Extrait selon White	0	0	0	0	0	0

TABLEAU XI

Précipitations par le *sérum antimicrobien Aertrycke S* (dilutions de la solution d'antigène)										
	1/1000	1/10.000	1/100.000	1/200.000	1/400.000	1/800.000	1/1.600 000	1/3.200.000	1/6 400.000	1/12.800 000
B. d'Aertrycke forme S :										
Solution d'antigène complet..	+++ +++	++++	++	+	+	+	+	+	±	−
Solution d'antigène résiduel..	++	++++	++	+	+	+	±	−	−	−
B. de Gaertner forme S :										
Solution d'antigène complet..	+++	++	+	+	±	−	−	−	−	−
Solution d'antigène résiduel..	±	++	+	±	−	−	−	−	−	−

TABLEAU XII

Précipitations par le *sérum antimicrobien Gaertner S* (dilutions de la solution d'antigène)

	1/1000	1/10.000	1/100.000	1/200.000	1/400.000	1/800.000	1/1.600.000	1/3.200.000	1/6 400.000	1/12.800.000
B. de Gaertner forme S :										
Solution d'antigène complet..	+++	++++	++	+	+	+	+	±	—	—
Solution d'antigène résiduel..	++	++++	++	+	+	+	±	—	—	-
B. d'Aertrycke forme S :										
Solution d'antigène complet..	+++	++	+	+	±	—	—	—	—	—
Solution d'antigène résiduel..	±	++	+	—	—	—	—	—	—	—

une faible extension. Il est fort possible que, au cours d'une autolyse prolongée et au moins à certains *p*H, s'installe un clivage de l'antigène complet en antigène résiduel. Des expériences, actuellement en cours, en décideront. Enfin, de même que la toxicité, la spécificité de l'antigène complet est thermostable et résiste parfaitement bien à un chauffage de 30 minutes à l'autoclave (120°).

Une dernière question se pose : Dans quelles limites l'antigène complet et l'antigène résiduel sont-ils spécifiques des bactéries d'où on les extrait ? Nous nous réservons de revenir ultérieurement sur cette question en lui donnant tout le développement qu'elle mérite dans un travail d'ensemble portant sur tous les membres du groupe colibacille - paratyphique - bacille d'Eberth. Pour l'instant, nous nous bornons à donner, dans les tableaux XI et XII, le comportement des antigènes complets et résiduels du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner vis-à-vis des deux sérums antimicrobiens correspondants.

On voit qu'un même sérum antimicrobien S précipite à la fois l'antigène complet et l'antigène résiduel du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, bactéries très voisines à de multiples points de vue. Mais la précipitation est beaucoup plus intense lorsqu'on met en présence un antigène avec le sérum homologue que lorsqu'on provoque la précipitation de l'antigène par un sérum hétérologue.

PROPRIÉTÉS IMMUNISANTES DE L'ANTIGÈNE COMPLET

L'injection d'antigène résiduel ne provoque chez l'animal aucun phénomène toxique et aucun phénomène d'immunité ; tout se passe comme si l'on injectait un polysaccharide de caractère banal comme du glycogène. Il en est tout autrement de ce que nous avons appelé antigène complet. En effet cette substance est toxique et elle est antigénique au sens plein du terme, car son injection déclanche chez l'animal :

1° L'apparition d'anticorps dans le sérum : agglutinines vis-à-vis du microbe et précipitines vis-à-vis des solutions d'antigène complet et d'antigène résiduel;

2° Une immunisation contre l'action toxique de l'antigène complet et des bactéries vivantes.

Nos expériences d'immunisation ont porté surtout sur le lapin et sur la souris, le premier animal nous ayant permis de préparer des sérums renfermant des précipitines et des agglutinines, et le deuxième animal nous ayant servi à démontrer la création d'un état de résistance à l'action toxique de l'antigène complet et des bactéries vivantes.

Nous avons pu immuniser une douzaine de lapins avec l'antigène complet isolé du b. d'Aertrycke forme S, et 2 lapins avec l'antigène retiré de la forme S du b. de Gaertner. Il est indispensable de commencer par de faibles doses de l'ordre du centième de milligramme sous peine de tuer l'animal non immunisé pour lequel 2 milligrammes constituent une dose sûrement mortelle, et 0,5 mgr. une dose dangereuse. On fait 6 à 8 injections espacées de 3 à 4 jours, les premières dans le péritoine, les dernières dans les veines, en augmentant chaque fois le poids de substance utilisée jusqu'à ce qu'on emploie finalement, si on le désire, des doses de l'ordre de quelques milligrammes qui sont parfaitement bien tolérées par l'animal ayant développé une solide immunité antitoxique. Mais l'expérience acquise dans l'immunisation du lapin avec l'antigène du b. d'Aertrycke nous a montré qu'on n'a certainement aucun avantage à atteindre ces fortes doses. Pour une même technique d'immunisation, la richesse du sérum en précipitines varie beaucoup d'un animal à un autre : parfois l'antigène n'est pas précipité par le sérum au delà de la dilution 1/800.000, alors que souvent la précipitation nette va jusqu'à 1/3.200.000 ou 1/6.400.000, c'est-à-dire plus loin que lorsqu'on utilise comme agent précipitant le sérum antibactérien préparé avec le microbe total. Les tableaux XIII et XIV résument les résultats des réactions de précipitations obtenues avec les sérums de 2 lapins ayant développé une bonne immunité, l'un à la suite d'injections répétées d'antigène Aertrycke, l'autre à la suite d'injections d'antigène Gaertner.

La toxicité et la spécificité, de même que les propriétés chimiques apparentes, se maintenant intactes après chauffage de la solution d'antigène complet pendant 30 minutes à 120° (autoclave), on avait tout lieu de croire à la thermostabilité du pouvoir antigénique. Et pourtant nous n'avons connu que des échecs dans nos tentatives de développer des précipitines, aussi bien que des agglutinines, chez 8 lapins, par injections répétées d'an-

TABLEAU XIII

Nature de l'antigène complet soumis à la précipitation	Sérum précipitant préparé par injections répétées au lapin d'antigène complet retiré du *b. d'Aertrycke* (dilution de l'antigène complet)									
	1/1000	1/10.000	1/100 000	1/200.000	1/400 000	1/800.000	1/1.600.000	1/3 200.000	1/6.400.000	1/12.800.000
Antigène complet du *b. d'Aertrycke.*	+++ +++	++++	++	+	+	+	+	+	±	—
Antigène complet du *b. de Gaertner.*	+++	++	+	+	+	±	—	—	—	—

TABLEAU XIV

Nature de l'antigène complet soumis à la précipitation	Sérum précipitant préparé par injections répétées au lapin d'antigène complet retiré du *b. de Gaertner* (dilution de l'antigène complet)									
	1/1000	1/10.000	1/100.000	1/200.000	1/400.000	1/800.000	1/1.600 000	1/3 200 000	1/6.400.000	1/12 800.000
Antigène complet du *b. de Gaertner.*	+++ +++	++++	++	+	+	+	+	+	±	—
Antigène complet du *b. d'Aertrycke.*	+++	++	+	+	+	±	—	—	—	—

tigène Aertrycke autoclavé. Il reste à étudier les variations du pouvoir antigénique en fonction de la durée et de l'intensité du chauffage préalable auquel est soumis l'antigène complet. Il nous est actuellement impossible de préciser quelle sorte de dénaturation peut subir la substance antigénique pendant le chauffage.

A côté des précipitines, se développent des agglutinines somatiques dans le sérum de lapin immunisé avec l'antigène complet. Ici encore la richesse en anticorps varie beaucoup d'un lapin à l'autre; mais lorsqu'une bonne immunité s'est installée, on voit par exemple le sérum d'un lapin préparé avec l'antigène du b. d'Aertrycke agglutiner le b. d'Aertrycke S jusqu'à la dilution de 1/6.400, tandis que le bacille de Gaertner S n'est agglutiné que jusqu'à 1/400, et inversement le sérum d'un lapin préparé avec l'antigène du b. de Gaertner agglutine le b. de Gaertner S jusqu'à plus de 1/12.800, pendant que le b. d'Aertrycke S n'agglutine qu'à 1/800. Absorbés avant tout par des recherches chimiques concernant l'antigène complet, nous n'avons pas eu encore le loisir de faire l'analyse sérologique détaillée de cet antigène selon la méthode de White ; mais les recherches de Raistrick et Topley, dont nous avons parlé dans l'introduction du présent travail et qui ont porté sur l'action immunisante de préparations renfermant, selon toutes probabilités, ce que nous appelons antigène complet comme principe actif, comblent au mieux cette lacune. Les deux auteurs précités trouvent que la fraction toxique et immunisante qu'ils obtiennent à partir du b. d'Aertrycke renferme à la fois le facteur antigénique I et le facteur antigénique II de White.

Nos expériences sur le lapin montrent clairement qu'une immunisation contre la toxicité de l'antigène complet se développe lorsqu'on pratique des injections convenablement espacées de doses croissantes de cette substance antigénique. Mais la chose est encore plus aisément vérifiée sur la souris, et il est facile de montrer en outre sur cet animal que l'immunisation avec l'antigène développe un grand accroissement de résistance à l'action toxique de la bactérie vivante. Nous rappelons qu'une dose de 1/10 de milligramme d'antigène extrait du b. d'Aertrycke suffit à tuer de façon presque régulière la souris par injections intrapéritonéales, tandis qu'une dose double la tue toujours. Des essais préliminaires nous ont montré qu'une injection intrapéritonéale de 0,5 cc. de dilution au 1/30 d'une culture vivante de 24 heures de b. d'Aertrycke S sur bouillon, tue régulièrement la souris en 24 heures.

Des souris ont été immunisées en recevant 10 injections de substance antigénique allant de 5/100.000 de milligramme à 0,5 mgr. (5 fois la dose mortelle pour le témoin), et s'échelonnant sur une durée d'un mois et demi. Sur 20 souris ainsi préparées, 15 ont survécu et ont permis d'effectuer les expériences suivantes:

3 souris immunisées ont reçu chacune dans le péritoine, et en une seule fois, 3 milligrammes de substance spécifique (30 fois la dose mortelle). Une a survécu, 2 sont mortes après 48 heures, tandis que les témoins sont morts en 3 heures.

4 souris immunisées ont reçu 0,5 cc. de culture de 24 heures non diluée de b. d'Aertrycke S vivant (30 fois la dose mortelle). 2 ont survécu, 2 sont mortes, l'une au bout de 8 jours, l'autre au bout de 11 jours. Les témoins sont morts en quelques heures.

4 souris immunisées ont reçu 0,5 cc. d'une culture de 24 heures de b. d'Aertrycke, concentrée 4 fois en microbes par centrifugation (120 fois la dose mortelle). Une a survécu, une est morte au bout de 4 jours et 2 au bout de 7 jours. Les témoins sont morts en 2 heures.

Les 4 dernières souris immunisées gardées comme témoins ont survécu.

La substance que nous extrayons du b. d'Aertrycke présente donc la propriété d'immuniser la souris contre l'action toxique des bactéries vivantes.

Dans une relation préliminaire de ces expériences (1) nous avons écrit : « L'immunisation par la substance retirée du b. d'Aertrycke protège l'animal contre l'*infection* par des bactéries vivantes. » Le professeur Topley (2) nous a fait remarquer que la méthode qui consiste à injecter de telles doses de bactéries vivantes à l'animal rend difficile la distinction entre une immunité antitoxique et une immunité antibactérienne. « Quand les contrôles meurent en quelques heures, il est certain qu'on n'est pas en présence de l'évolution d'une maladie bactérienne sous sa forme ordinaire, mais d'un effet toxique. » Nous reconnaissons toute la justesse de cette observation et il nous reste à prouver de façon claire qu'une immunité antibactérienne s'établit chez les animaux injectés avec nos préparations. Cette démonstration a été donnée, avec toute la rigueur convenable, par Raistrick et Topley (3), au cours de leurs études sur les préparations immunisantes obtenues par eux à partir du b. d'Aertrycke.

(1) *C. R. Acad. Sciences*, 1934, t. 198, p. 2124.
(2) Communication personnelle.
(3) Voir introduction du présent travail.

ROLE DE L'ANTIGÈNE COMPLET DANS LA CONSTITUTION CHIMIQUE DU B. D'AERTRYCKE ET DU B. DE GAERTNER

Nous avons déjà indiqué (voir tableau I) que l'antigène complet représente près de 10 % du poids sec des formes S du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner. C'est donc un constituant microbien très important, du point de vue quantitatif tout au moins, et qui se place immédiatement après les albumines, les nucléoalbumines et les matières grasses. Le tableau II montre que les sucres engagés dans l'antigène complet représentent environ les 3/4 des glucides acido-solubilisables totaux des formes S.

Le tableau II révèle encore une chose intéressante. Les formes S et R d'un même microbe ont une teneur de même ordre de grandeur en glucides acido-solubles non spécifiques, en sorte que, du point de vue glucidique, la différence essentielle entre ces deux formes se résume dans la présence de l'antigène complet chez la première forme, et dans l'absence de cet antigène complet chez la seconde.

Nous avons recherché par la technique classique (dissolution dans la potasse à 60 % et précipitation alcoolique) s'il n'existerait pas de glycogène dans les formes S et R des deux bactéries étudiées. L'alcool précipite des substances glucidiques qui ne donnent aucune coloration avec l'iode, ce qui exclut la présence de glycogène, au moins en quantité notable.

Nous nous sommes préoccupés de comparer, à divers autres points de vue, la constitution chimique des formes R et S, et nos résultats sont consignés dans le tableau XV qui indique pour chaque corps dosé la moyenne de 3 expériences effectuées sur 3 récoltes microbiennes, chaque récolte donnant lieu à des dosages en double. Nous renvoyons à nos publications antérieures (1) en ce qui concerne les techniques mise en œuvre pour les composés azotés et phosphorés. Le carbone et l'hydrogène ont été dosés par microanalyse selon Pregl. A titre de comparaison, nous avons donné la constitution chimique du colibacille, tirée de nos publications précédentes :

(1) La bibliographie est donnée dans l'introduction.

TABLEAU XV

Corps dosés	*B. d'Aertrycke*		*B. de Gaertner*		*Coli-bacille*	En °/₀ de :
	R	S	R	S		
Carbone total	47,6	47,1	48,2	46,9	47,9	Matières sèches.
Hydrogène total	7,21	7,09	7,59	6,95	7,31	Matières sèches.
Azote total	13,7	12,5	13,4	12,1	13,7	Matières sèches.
Azote purique total	7,52	7,25	8,76	9,05	8,75	Azote total.
Azote acido-soluble total	7,50	7,93	5,93	6,26	4,70	Azote total.
Azote ammoniacal acido-soluble	24,6	26,2	14,7	17	22,8	Azote ac.-soluble.
Azote, acides aminés acido-solubles	18,5	16,2	21,3	21,2	20,9	Azote ac.-soluble.
Azote purique acido-soluble total	10,70	9,92	12,60	12,20	11,60	Azote ac.-soluble.
Azote purique des nucléotides acido-solubles	35,8	41	51	44,7	35,9	Azote purique ac.-soluble.
Phosphore total	2,80	2,39	2,71	2,42	2,54	Matières sèches.
Phosphore acido-soluble total	36,3	36,4	41,6	37,5	10,60	Posphore total.
Phosph. des ortho-phosphates acido-solubles	73,1	61,4	83,6	69,7	36,50	Phosphore ac.-soluble.

Nous avons insisté, dans des études antérieures, sur la remarquable plasticité chimique de la cellule microbienne, dont la composition peut varier dans des limites assez larges selon la constitution du milieu ambiant et tout spécialement selon la nature et les proportions des divers électrolytes présents dans ce milieu. Cela explique qu'une même bactérie, cultivée sur gélose ordinaire dans les mêmes conditions apparentes, puisse montrer d'une récolte à l'autre une composition quelque peu variable, ce qui ne permet d'attribuer à chaque espèce bactérienne qu'un « ordre de grandeur » en ce qui concerne ses divers constituants. Sous ces réserves, il résulte de la lecture du tableau XV que les deux formes S et R d'une même bactérie apparaissent comme étant de composition chimique voisine et on peut penser, jusqu'à meilleure information, que l'essentiel de la différence de constitution entre ces deux formes se ramène à la présence ou à l'absence de l'antigène complet. La teneur en azote total est peu

variable d'une récolte à l'autre d'un même microbe, ce qui s'explique aisément par la part de tout premier plan que prennent les albumines dans la constitution de la cellule bactérienne. La présence, dans les formes S, de près de 10 % d'antigène complet, très pauvre en azote, rend parfaitement compte de la moindre teneur en azote total des formes S comparativement aux formes R.

Il serait d'un vif intérêt de connaître quel rôle peut jouer dans la physiologie de la cellule microbienne cet antigène complet présent chez les seules formes S. S'agit-il d'une substance de réserve destinée à être brûlée ou bien s'agit-il d'un constituant cellulaire ou même d'une substance de déchet restant en marge des processus chimiques actifs dont la bactérie est le siège ? Les expériences qui se poursuivent actuellement dans notre laboratoire sur le métabolisme respiratoire comparé des formes S et R permettront, nous l'espérons, de jeter quelque lumière sur ces importantes questions.

PROPRIÉTÉS ET CONSTITUTION CHIMIQUES DE L'ANTIGÈNE COMPLET

Nous serons brefs en ce qui concerne les propriétés et la constitution chimique de l'antigène complet. Nous avons déjà fait connaître ailleurs (1) quelques premiers résultats, et nous poursuivons activement l'étude chimique de l'antigène complet renfermé non seulement dans le b. d'Aertrycke et dans le b. de Gaertner, mais encore dans toute une série d'autres bactéries. L'ensemble de nos résultats détaillés sera publié ultérieurement.

L'antigène complet du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner apparaît comme une substance solide, jaunâtre, d'aspect écailleux, insoluble dans les solvants organiques, se gonflant au contact de l'eau froide, pour s'y dissoudre lentement en donnant une solution opalescente. Cette opalescence résiste à la filtration sur papier et à la centrifugation prolongée à 10.000 tours par minute. La substance dissoute peut être isolée sans dénaturation en évaporant l'eau dans le vide à froid; mais si l'on chasse l'eau au bain-marie bouillant, on dénature plus ou moins l'antigène qui s'insolubilise.

(1) *C. R. Acad. Sciences*, 1934, t. 198, p. 2211.

L'antigène complet est absolument non dialysable, même à travers du collodion de haute perméabilité (collodion à 0.5 %), contrairement à l'antigène résiduel qui dialyse lentement.

Les solutions d'antigène complet ne précipitent pas par les divers réactifs utilisés pour la caractérisation des albumines : acide trichloracétique, acide sulfosalicylique, réactif citro-picrique d'Esbach, acide phosphotungstique employé seul, sels de mercure, etc., et c'est, comme on l'a vu, sur cette propriété que repose l'extraction de l'antigène à partir de la cellule microbienne. Les solutions précipitent par adjonction de quantités suffisantes d'alcool ou d'acétone; elles précipitent également par l'acide phosphotungstique en milieu fortement acidulé par l'acide sulfurique ou par l'acide chlorhydrique. Si l'on redissout dans l'eau les précipités que donnent l'alcool, l'acétone ou l'acide phosphotungstique et qu'on dialyse les solutions obtenues, on récupère l'antigène avec toutes ses propriétés initiales. L'antigène est plus ou moins facilement adsorbé de ses solutions par toute une série de corps : kaolin, alumine, phosphate tricalcique, hydroxydes métalliques (hydroxyde de cuivre en particulier). Enfin, et cela gêne beaucoup la préparation d'une substance chimiquement pure, l'antigène dissous retient énergiquement, par adsorption sans doute, les sels métalliques (de cuivre, de fer, etc.) dissous dans le milieu et dont il ne peut plus être débarrassé complètement par simple dialyse.

L'antigène complet apparaît comme une substance à très grosse molécule, azotée et phosphorée, qui libère à l'hydrolyse acide (chauffage à reflux pendant 4 heures à 100°, le milieu étant normal en ClH ou SO^4H^2) des acides gras insolubles qui se séparent, et des sucres réducteurs qui restent dissous. Nous résumons, dans le tableau XVI, l'essentiel de cette constitution, tous les chiffres étant des moyennes exprimées en pour cent de substance antigénique séchée à 100°. On notera l'inégale richesse des antigènes complets du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner en matières sucrées libérables à l'hydrolyse acide, en contraste avec l'égale richesse des mêmes antigènes en acides gras simultanément libérés à l'hydrolyse. Le dosage des matières réductrices a été pratiqué selon Hagedorn et Jensen; les acides gras ont été extraits par l'éther et on a pesé le résidu sec, laissé par l'évaporation de la solution éthérée.

TABLEAU XVI

	N	P	Acides gras libérés à l'hydrolyse	Sucres exprimés en glucose libérés à l'hydrolyse
Antigène extrait du *b. d'Aertrycke*.....	2,04	2,40	21,4	39,8
Antigène extrait du *b. de Gaertner*.....	2,20	2,12	20.5	51,7

Les acides gras extraits des deux substances antigéniques sont solides à la température ordinaire, incolores, solubles dans l'alcool, l'éther et le benzène (d'où ils cristallisent par évaporation du solvant), insolubles dans l'eau. Ils donnent des savons alcalins solubles dans l'eau. Leur indice d'iode est bas. Ils sont dépourvus de toxicité et on peut injecter dans le péritoine de la souris 5 milligrammes d'un de ces acides gras (acides gras du b. d'Aertrycke ou acides gras du b. de Gaertner, dissous en savon alcalin) sans tuer l'animal.

Lorsqu'on acidifie la solution d'antigène complet à N/20 avec de l'acide acétique et qu'on chauffe à 100° « à reflux », on voit la solution devenir progressivement plus opalescente et, au bout d'une heure environ, un précipité blanc se forme, qui flotte au sein d'un liquide dépourvu de toute opalescence.

Le clivage de l'antigène complet s'accompagne de la libération d'un peu de sucres réducteurs et d'une certaine quantité d'acide orthophosphorique. Le liquide renferme en dissolution l'antigène résiduel. A l'hydrolyse acide, il libère des sucres réducteurs, mais ne donne pas d'acides gras. Le précipité représente très approximativement en poids un tiers de la matière mise en œuvre. A l'hydrolyse, il ne libère pas de sucres réducteurs, mais donne des acides gras. L'hydrolyse acide met en liberté le phosphore du précipité sous forme d'acide orthophosphorique; elle solubilise de même l'azote du précipité et met en liberté de l'ammoniaque et de l'azote aminé « formol-titrable » qui, au total, ne représentent qu'une partie de l'azote engagé dans le précipité.

L'antigène complet se présente aussi comme résultant de l'union assez fragile du polysaccharide spécifique qui constitue l'antigène résiduel avec, à la fois, un acide gras et un matériel

phosphoré et azoté, dont l'azote pourrait, au moins en partie, répondre à quelque structure polypeptidique. La copule lipido-azoto-phosphorée de l'antigène complet apparaît de la sorte comme quelque chose de l'ordre d'un « phosphatide » sens large. Mais il faut bien noter que le précipité tel qu'on l'obtient par chauffage de l'antigène complet avec de l'acide acétique dilué, ne représente pas cette copule intacte, mais un mélange complexe de produits de sa décomposition, d'où il est aisé, par exemple, d'isoler une certaine quantité d'acide gras libre, par épuisement à l'alcool.

Nous nous sommes demandé si, dans nos préparations, l'acide gras ne serait pas libre de toute combinaison chimique avec le polysaccharide, et simplement retenu en solution colloïdale par quelque effet « colloïde protecteur » exercé par le glucide spécifique. Il ne paraît pas en être ainsi et il semble bien s'agir d'une combinaison vraie entre les deux termes. En effet, d'une part, ni l'éther, ni le benzène n'extraient d'acides gras lorsqu'on les agite avec la solution aqueuse d'antigène ou lorsqu'on les met en contact avec l'antigène solide non dénaturé, et d'autre part, l'antigène complet ne laisse dialyser aucune substance glucidique, contrairement à ce qui se passe lorsqu'on travaille sur l'antigène résiduel libre.

Le clivage de l'antigène complet en abolit presque complètement la toxicité. On peut impunément injecter à la souris, après neutralisation exacte avec de la soude, le produit brut obtenu en clivant 2 milligrammes d'antigène complet du b. d'Aertrycke ou du b. de Gaertner dissous dans 0,5 cc. d'eau. Avant clivage, une pareille dose tuerait la souris en quelques heures, et une dose de 10 à 20 fois moindre suffirait encore à la tuer en 24 à 48 heures.

L'antigène résiduel est sans aucune action sur l'animal. Quant au précipité blanc lipido-azoto-phosphoré, on peut le dissoudre aisément dans la soude très diluée en tiédissant. Si on neutralise la solution obtenue et qu'on l'injecte à la souris, il faut atteindre de hautes doses pour tuer l'animal et encore cela non à coup sûr.

Une importante question se pose immédiatement à l'esprit : ce que nous avons appelé antigène complet représente-t-il bien une seule et même substance chimiquement pure et responsable à la fois des propriétés toxiques et des propriétés spécifiques et antigéniques, ou au contraire s'agit-il de deux ou même de plusieurs substances actives mélangées ?

Nous ne pouvons pas considérer nos actuelles préparations

d'antigène complet comme représentant une substance chimique rigoureusement pure. Ainsi, par exemple, nous ne sommes pas encore parvenus à en éliminer complètement les matières minérales et spécialement les sels de calcium qui ne représentent, selon toute vraisemblance, qu'une simple souillure du principe actif. Mais sous réserve de la présence d'une petite quantité d'impuretés, nous pensons avoir affaire à une substance unique, responsable à la fois des propriétés toxiques et des propriétés spécifiques-antigéniques. Notre opinion est basée sur les arguments suivants :

1° Nos préparations présentent une composition chimique et des propriétés biologiques constantes pour un même microbe. Ainsi, par exemple, lorsqu'on dose les sucres libérés par l'hydrolyse acide de la préparation provenant du b. d'Aertrycke, on trouve toujours un chiffre se situant très près de 40 %, tandis que l'antigène extrait du b. de Gaertner donne un résultat oscillant fort peu autour de 51 à 52 %. Jusqu'à ce jour, nous avons eu l'occasion, au cours de nos recherches sur le b. d'Aertrycke, de doser le sucre contenu dans 44 préparations d'antigène complet, et tous les chiffres obtenus sont consignés dans le tableau XVII où ils sont rangés par ordre croissant. On dresserait un tableau analogue avec nos 17 résultats concernant l'antigène complet du b. de Gaertner et on verrait la teneur en sucre varier de 49 à 54,7 %, la moyenne générale étant de 51,7 %. Des faits analogues se rencontrent lorsqu'on considère la teneur des antigènes en acides gras, en azote, en phosphore, etc., ou aussi bien leurs propriétés toxiques et spécifiques.

TABLEAU XVII

Teneur en sucre, pour cent, de l'antigène complet du *b. d'Aertrycke* (résultats de 44 expériences)

37,9	38,9	39.9	40.8
37,9	38,9	40,0	40,9
38,1	39,0	40,0	41,1
38,3	39.1	40,0	41,2
38,3	39,1	40,3	41,3
38,4	39,3	40,4	41,3
38,5	39,3	40,5	41,3
38,5	39,5	40,5	41,5
38,6	39,8	40,6	41,6
38,7	39,8	40,6	41,6
38,9	39,8	40,6	41,9

Moyenne générale : 39,8

Extrêmes { 37,9, soit — 4,8 % / 41,9, soit + 5,3 % } par rapport à la moyenne.

Enfin, quel que soit le réactif déprotéinisant utilisé au cours de la préparation de l'antigène complet, on aboutit à une substance de propriétés chimiques et biologiques constantes, et cela malgré des rendements fort variables en antigène, ainsi que nous l'avons expliqué déjà dans le chapitre relatif aux techniques.

2° Malgré de multiples tentatives dans des directions diverses, nous ne sommes pas parvenus à fractionner nos préparations et à séparer quelque substance toxique du corps polysaccharide sûrement responsable des propriétés spécifiques. Ainsi, par exemple, des précipitations répétées par l'alcool, l'acétone ou l'acide phosphotungstique en milieu chlorhydrique, laissent à l'antigène toutes ses propriétés chimiques et biologiques et respectent en particulier aussi bien sa toxicité que sa spécificité. Le recours à des solvants organiques comme l'éther, le benzène, le chloroforme, qu'on agite avec la solution d'antigène ou qu'on fait agir sur la substance sèche non dénaturée, ne permet pas davantage de séparer quelque fraction toxique du polysaccharide spécifique. La toxicité de la préparation antigénique paraît ainsi dépendre de l'union chimique fragile entre le polysaccharide spécifique et la copule lipidique qui, pris isolément, sont complètement ou presque complètement atoxiques.

Nous reconnaissons volontiers que ces deux ordres d'arguments manquent d'un caractère absolument décisif, mais ils nous semblent susceptibles pourtant de légitimer, « jusqu'à mieux informé », la croyance à l'existence d'une substance unique responsable des propriétés biologiques de ce que nous avons appelé l'antigène complet.

CONCLUSIONS

Nous avons démontré que les formes S du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner renferment une substance non protéique, que nous appelons antigène « complet » et qu'on peut extraire en traitant les bactéries par un déprotéinisant comme l'acide trichloracétique. L'antigène complet représente près de 10 % du poids sec des bactéries S. C'est une substance soluble dans l'eau et insoluble dans les solvants organiques; elle est absolument non dialysable; elle renferme un peu d'azote et de phosphore et elle libère en abondance à l'hydrolyse acide des sucres réducteurs et des acides gras. Elle est nettement toxique (c'est la composante

acido-soluble ou non protéique de l'endotoxine microbienne); elle est spécifique et précipite à haute dilution par le sérum antimicrobien préparé avec la bactérie S correspondante; elle est antigénique au sens plein du terme, puisque son injection à l'animal déclanche :

1° L'apparition d'anticorps : agglutinines vis-à-vis du microbe et précipitines vis-à-vis de l'antigène complet et vis-à-vis de ce qu'on appelle classiquement l'antigène « résiduel »;

2° Une immunisation de l'animal contre l'action toxique de l'antigène complet et contre l'action toxique des bactéries vivantes.

Lorsqu'on chauffe l'antigène complet avec de l'acide acétique dilué, on le clive en un précipité renfermant l'acide gras à côté de substances azotées et phosphorées et en un liquide qui tient en dissolution un polysaccharide spécifique. Ce polysaccharide spécifique est identique à l'antigène « résiduel » qu'on sait extraire des formes S du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner, en chauffant ces microbes avec de l'acide acétique dilué selon la technique bien connue de White. Cet antigène résiduel, lentement dialysable, est non toxique et s'il est spécifique, puisqu'il précipite à haute dilution par le sérum antimicrobien, il n'est pas antigénique à proprement parler, car son injection à l'animal ne déclanche aucune apparition d'anticorps. L'antigène résiduel préparé selon White apparaît comme un « artefact » résultant de la décomposition de l'antigène complet, seul présent dans les bactéries vivantes.

Nous pouvons schématiser comme suit ces propriétés :

Antigène « complet » (présent dans les microbes).	Chauffage avec de l'acide acétique dilué. →	*Antigène « résiduel »* (artefact).
Non dialysable.		Lentement dialysable.
Hydrolyse : Sucres + Acides gras.		Hydrolyse : sucres.
Toxique.		Non toxique.
Spécifique.		Spécifique.
Antigénique.		Non antigénique.

Les formes R des mêmes microbes ne renferment pas plus d'antigène complet que d'antigène résiduel, et tant du point de vue composition chimique que du point de vue toxicité et spécificité, on peut, en première approximation, considérer que la présence de cet antigène est la différence essentielle séparant les formes S des formes R.

*
**

Des recherches en cours, et dont le détail fera l'objet de mémoires ultérieurs, nous montrent que de nombreuses autres bactéries renferment un antigène « complet » très analogue à tout point de vue à celui que nous avons retiré du b. d'Aertrycke et du b. de Gaertner. Nous nous préoccupons, en ce moment, de savoir si la règle est générale pour toutes les bactéries, si la présence d'antigène complet différencie toujours la forme S de la forme R, et enfin si des substances analogues peuvent se rencontrer dans les tissus végétaux et animaux.

Nous nous faisons un devoir de remercier ici la Fondation Rockefeller qui, par son aide matérielle, a contribué à permettre l'exécution du présent travail.

ÉTUDES SUR LA RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT DANS LA FIÈVRE APHTEUSE (1)

par

M. GALEA

(Laboratoire national
de Recherches des Services vétérinaires,
Institut des Recherches agronomiques)

Depuis la découverte de la pluralité des virus aphteux par H. Vallée et H. Carré, le diagnostic des différents types de virus est fait uniquement sur l'animal vivant par des épreuves d'immunité. Pour des raisons d'économie, c'est, en règle générale, le cobaye qui sert comme animal d'expérience.

Cette méthode de diagnostic, utilisée couramment dans les laboratoires, présente de sérieux inconvénients. Ainsi, la dépense d'entretien de nombreux animaux guéris de différents types connus de virus, le temps que nécessitent toutes les inoculations croisées, représentent de grandes difficultés même pour les laboratoires spécialisés pour l'étude de la Fièvre aphteuse.

La notion de la pluralité des virus aphteux restant à la base de toute prophylaxie, la recherche d'une méthode de diagnostic prompte et sûre s'impose toujours.

C'est pour cette raison que nombre d'auteurs ont cherché à appliquer, à ce diagnostic des différents types de virus aphteux, la réaction de fixation du complément (Bordet-Gengoux).

Cette réaction qui, dans d'autres maladies, a rendu d'immenses services, en matière de fièvre aphteuse, n'a malheureusement pas réalisé jusqu'ici les résultats escomptés. Les conclusions de la majorité des auteurs qui ont étudié cette question sont négatives ou contradictoires.

Le travail le plus important, en ce qui concerne la réaction de

(1) Travail reçu le 30 novembre 1934.
Que notre maître, Monsieur le professeur H. Vallée, et Messieurs les docteurs H. Carré et P. Rinjard trouvent ici, avec notre respectueux hommage, nos plus vifs remerciements pour leur bon accueil et leurs précieux conseils.

fixation du complément, comme moyen de diagnostic différentiel des virus aphteux, est celui de Al. Ciuca (1929). Grâce à sa technique, l'auteur a pu obtenir, dans 100 % des cas, des réactions positives.

Nous ne citerons pas ici tous ceux qui, avant Al. Ciuca, se sont occupés de l'étude de la réaction de fixation du complément dans la Fièvre aphteuse. Retenons seulement que les conclusions des travaux publiés, avant ou après 1929, sont négatives ou insuffisantes pour engager à faire une application pratique de cette méthode d'identification.

Au cours de cette publication, nous ne faisons pas mention des recherches sur le même sujet, publiées par R. Helm en 1933, dans le *Zbl. f. Bakt. Parasitenkunde u. Infkr.* (vol. 130, pp. 305-312).

Ceci est justifié par le fait que nos recherches, ainsi que la rédaction du présent mémoire, ont été achevées dès le mois de novembre 1932, c'est-à-dire à une date bien antérieure à celle de la parution du travail de R. Helm.

Notre mémoire n'a pu être publié jusqu'à aujourd'hui à cause de circonstances indépendantes de notre volonté.

Dans la suite, nous n'avons rien voulu ajouter aux faits exposés dans ce mémoire.

C'est ainsi que nous avons entrepris l'étude de la réaction de fixation du complément dans la Fièvre aphteuse, avec l'intention de dégager une technique précise. A cette fin, nous avons effectué plus de 700 réactions.

Nos recherches portent uniquement sur la mise en évidence de la sensibilisatrice antiaphteuse dans le sérum de cobayes convalescents ou vaccinés par l'une des techniques que nous avons proposée (1). Disons dès maintenant qu'il est possible de la déceler par la réaction de fixation du complément.

Au cours de nos recherches, nous avons observé que la réaction de fixation appliquée à l'étude de la fièvre aphteuse est tout particulièrement délicate. En vérité, même des réactions fortement positives peuvent devenir douteuses ou négatives si certaines règles d'exécution ne sont pas observées. Nous reviendrons sur ce point plus loin, dans un chapitre de critique. Nous exposerons d'abord les différents éléments de la réaction, leur préparation et leur conservation. Ensuite, nous décrirons la technique proprement dite de la réaction avec les résultats que nous avons obtenus.

(1) Galea (M.) : *C. R. Soc. de Biol.*, 1932, t. CIX, p. 1262, et t. CX, p. 270.

L'ANTIGÈNE

En premier lieu, nous avons cherché à préparer certains antigènes en suivant les techniques de leur auteur. Nous avons ainsi expérimenté des antigènes constitués par du virus aphteux ayant subi l'action des différents agents physico-chimiques : la chaleur, la lumière, le formol, le chloroforme, l'alcool et l'éther.

Une constatation importante a tout de suite été faite : avec un matériel infectieux destiné à devenir antigène, soit de la lymphe aphteuse, soit une émulsion de lambeaux d'aphtes, soit un broyage d'organes de cobayes en pleine généralisation aphteuse, *les résultats ont toujours été pratiquement négatifs si l'antigène ne contenait pas du virus vivant.*

Ceci est toujours vrai même vis-à-vis d'un matériel infectieux stérilisé par un moyen physique ou chimique qui garde intactes ses propriétés vaccinales. Seule, une émulsion contenant du virus aphteux en grande quantité, parfaitement capable de donner la maladie, peut être utilement employée comme antigène pour la réaction de fixation du complément.

Nous exigeons d'un antigène utilisable pour la réaction de fixation, comme cela doit être une règle générale en pareil cas, les trois propriétés suivantes : spécificité, sensibilité, stabilité, c'est-à-dire :

1° qu'il ne fixe l'alexine qu'en présence de la sensibilisatrice antiaphteuse strictement homologue :

2° que de petites quantités d'antigène soient suffisantes pour fixer la sensibilisatrice homologue en présence du complément;

3° qu'il garde ses propriétés le plus longtemps possible.

La conservation de la valeur antigène d'une émulsion aphteuse virulente employée présente le plus grand intérêt quand on veut exécuter de nombreuses réactions. Nous nous sommes efforcé de préparer un antigène en grande quantité qui, d'une conservation facile, nous permettrait d'exécuter des réactions en grandes séries.

Une émulsion provenant d'une longue macération de lambeaux d'aphtes de cobayes dans de l'eau physiologique, ne nous a pas toujours donné complète satisfaction à ce point de vue, et après de nombreux essais, nous avons mis au point une émulsion virulente stabilisée.

Notre antigène est représenté par un produit de broyage de lambeaux d'aphtes de 24 heures dans de l'eau physiologique, auquel nous ajoutons une petite quantité d'extrait aqueux du cerveau de cobaye.

1° Préparation de l'émulsion de lambeaux d'aphtes.

On inocule, dans le derme du coussinet plantaire de plusieurs cobayes, une certaine quantité de virus aphteux, appartenant à un type connu. On récolte les aphtes primaires entre la dix-huitième et la vingt-quatrième heure après l'inoculation, on les pèse, puis on les triture finement dans un mortier.

Pour obtenir ce résultat, il est à recommander d'ajouter aux lambeaux d'aphtes quelques gouttes d'eau salée physiologique de Ph 7,6 et une petite quantité de sable. Opérant ainsi, on obtient très aisément, au bout de quelques minutes, un magma très fin qu'on délaye ensuite dans 40 parties d'eau physiologique dont le Ph a été ajusté à 7,6. L'émulsion ainsi obtenue est ensuite centrifugée à grande vitesse (12.000 à 14.000 tours) pendant une heure.

Le liquide surnageant, de couleur légèrement jaunâtre, constitue l'antigène. Employé tel que, cet antigène nous a fourni l'occasion d'assister à de très belles réactions positives.

Néanmoins, dans cet état, la conservation de ses propriétés antigènes est assez limitée, même s'il est maintenu à de basses températures et à l'abri de la lumière.

L'abaissement du Ph initial provoque, à bref délai, la diminution de la virulence de l'émulsion. Or, comme nous l'avons dit plus haut, seules les émulsions hautement virulentes peuvent fournir un bon antigène pour la réaction de fixation. Une émulsion de lambeaux d'aphtes ou une dilution de lymphe aphteuse, stérilisées, ont une valeur nulle pour la réaction de fixation du complément.

Au cours des différentes expériences, *nous avons observé que l'addition à une émulsion aphteuse virulente d'une certaine quantité d'extrait aqueux cérébral de cobaye stabilise, en quelque sorte, sa virulence et facilite sa conservation.*

A la suite de ces observations, nous avons effectué une nombreuse série de réactions de fixation avec un antigène additionné d'une petite quantité d'extrait cérébral de cobaye. Les résultats ainsi obtenus nous ont toujours pleinement satisfait.

2° Préparation de l'extrait cérébral.

On sacrifie, par saignée à blanc, un cobaye adulte en bon état de santé, et aussitôt on extrait aseptiquement son cerveau. On émulsionne 1 gramme de cerveau dans 50 centimètres cubes d'eau distillée stérilisée. L'émulsion est ensuite placée à la glacière à + 4° pendant au moins trois jours. Au cours de ces trois jours, on agite celle-ci 5 ou 6 fois par jour et on la laisse ensuite se sédimenter. On utilisera seulement le liquide surnageant.

Au moment de la préparation de l'antigène et avant la centrifugation de celui-ci, on ajoute, à 40 centimètres cubes d'émulsion de lambeaux d'aphtes, 6 à 8 gouttes d'extrait obtenu de la façon décrite ci-dessus.

Pour la préparation de l'extrait aqueux cérébral, seuls les cobayes adultes, en parfait état de santé, peuvent servir. Les sujets en pleine généralisation aphteuse ne peuvent fournir un bon extrait.

*
**

Cet antigène, dont nous venons de décrire la préparation, doit être conservé à l'abri de la lumière et à de basses températures (— 6°, — 8°). Dans ces conditions, il conserve ses propriétés antigènes intactes pendant au moins 137 jours. Il fournit des réactions positives seulement en présence de la sensibilisatrice antiaphteuse homologue. Nous n'avons jamais obtenu de résultats positifs en présence d'une sensibilisatrice hétérologue ou même étrangère au virus aphteux.

Fraîchement préparé, il ne possède aucun pouvoir anticomplémentaire. Ce pouvoir antialexique augmente, dans la suite, à tel point qu'après un mois de conservation il est capable de fixer une dose minima de complément. Il est alors suffisant de diluer, au moment de l'emploi, deux parties d'antigène dans une partie d'eau salée physiologique au Ph 7,6 pour le faire disparaître.

SÉRUM A ÉTUDIER

Le sang de cobayes convalescents de Fièvre aphteuse, vaccinés ou normaux, est obtenu par ponction cardiaque. Le sang ainsi obtenu est laissé, jusqu'à la coagulation, à la température du laboratoire. Le coagulum est détaché avec soin de la paroi des tubes à l'aide d'une baguette de verre stérilisée, en évitant, autant que possible, de fragmenter le coagulum, sans quoi le sérum est coloré par l'hémoglobine et la netteté des réactions est sérieusement menacée.

On centrifuge ensuite les tubes contenant le sang coagulé pendant 20 minutes à une vitesse modérée (600-800 tours). Le sérum obtenu, distribué dans des ampoules stérilisées, est inactivé au bain-marie à 55° pendant 30 minutes. Le chauffage des sérums à étudier présente une certaine importance.

En effet, le taux de la sensibilisatrice antiaphteuse est assez faible dans le sérum de cobayes convalescents ou même hyperimmunisés. *Inactivant ces sérums à une température supérieure à 55°, une bonne partie de la sensibilisatrice est détruite.*

La même constatation est faite si les sérums sont chauffés pendant plus de 30 minutes à 55°. Nous devons signaler aussi que le pouvoir anticomplémentaire persistant quelquefois dans les sérums de cobayes, malgré un chauffage correct à 55° pendant 30 minutes, augmente fortement par un chauffage trop prolongé ou trop élevé, arrivant ainsi à fixer 3 ou 4 doses minima actives d'alexine.

Pour permettre d'interpréter la réaction de fixation avec de tels sérums anticomplémentaires, la dilution n'est pas recommandable, à cause de la faible quantité de sensibilisatrice antiaphteuse. Nous avons préféré permettre une comparaison en augmentant le nombre de tubes témoins-sérum.

Les sérums inactivés à 55° pendant 30 minutes peuvent être conservés pendant au moins deux mois. Au delà de ce délai, on peut quelquefois observer que des sérums capables, au début, de fournir une réaction positive, même très nette, deviennent inertes tout en gardant leurs propriétés virulicides.

L'ALEXINE

Le sérum frais de cobaye normal constitue la meilleure alexine. Cependant, au cours de nos recherches, quand nous avons effectué de nombreuses réactions, la conservation du sérum frais de cobaye, dans une solution saline hypertonique, nous a donné complète satisfaction.

Nous avons, à cette fin, employé la formule donnée par A.-D. Ronchèse (1). Voici comment nous avons procédé :

Le sérum frais de plusieurs cobayes est mélangé. A 1 centimètre cube de ce mélange on ajoute 1 cc. 5 de la solution conservatrice indiquée par Ronchèse.

Ce mélange conserve, à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière, un pouvoir alexique suffisant durant au plus 28 jours.

Au moment de l'emploi, on dilue 1 centimètre cube de cette solution hypertonique de sérum de cobaye dans 3 centimètres cubes d'eau distillée, et on titre le pouvoir alexique comme s'il s'agissait d'un sérum frais. Ce titrage indispensable doit être exécuté au moins une fois par jour.

Le service rendu par une alexine conservée est surtout appréciable quand on est obligé d'exécuter des réactions de fixations en grande série.

SYSTÈME HÉMOLYTIQUE

a) Sérum hémolytique.

Dans toutes nos recherches, nous avons employé le sérum de cheval antimouton fourni par l'Institut Pasteur de Paris. Nous avons toujours employé, pour nos réactions, 2 ou 3 doses minima actives de sérum hémolytique. Un petit excès de sérum hémolytique peut rendre les résultats négatifs.

b) Globules rouges de mouton.

Les globules rouges de mouton provenaient du sang défibriné lavé aseptiquement 5-6 fois dans de l'eau salée isotonique stérile.

Nous avons employé soit des globules frais, soit des globules conservés. A cette fin, il est suffisant d'émulsionner les globules rouges après le dernier lavage dans de l'eau physiologique stérile formolée dans une proportion de 1 p. 1500. Les globules ainsi préparés aseptiquement peuvent être conservés à la glacière à + 4° pendant 20-25 jours.

(1) Ronchèse (A.-D.) : *C. R. Soc. de Biol.*, 1931, t. CVI, p. 19.

LA TECHNIQUE DE LA RÉACTION

La technique de la réaction de fixation, que nous avons employée pour déceler la présence de la sensibilisatrice antiaphteuse correspondant à l'antigène utilisé, est celle indiquée par Calmette et Massol.

Nous avons adopté cette technique, car, à côté d'une grande précision, elle permet aisément la mise en évidence et le titrage des anticorps recherchés.

Disons tout de suite que ce titrage de la sensibilisatrice antiaphteuse contenue dans un sérum provenant d'un animal vacciné ou guéri de fièvre aphteuse est fort relatif. Etant donné l'impossibilité de disposer d'un antigène jouissant des mêmes propriétés, il est naturel que l'évaluation de la richesse d'un sérum en sensibilisatrice antiaphteuse homologue soit valable seulement pour l'antigène qui a servi pour la réaction. Si un sérum, en présence d'un antigène O (1), fixe, par exemple, 3 doses minima d'alexine, le même sérum, en présence d'un autre antigène O_1 peut fixer un nombre différent de doses minima d'alexine.

Trois séries de tubes sont nécessaires pour la réaction :

La première série comprend 5 tubes dans lesquels on met la même quantité d'antigène, soit 0 cc. 2 et une quantité fixe de sérum à étudier, soit 0 cc. 2.

La deuxième série est composée également de 5 tubes ; elle reçoit 0 cc. 2 de sérum par tube.

La troisième série comprend 3 tubes avec 0 cc. 2 d'antigène dans chaque tube.

On ajoute, à chaque tube des trois séries, des quantités croissantes d'alexine en partant de la dose minima active. A l'aide de l'eau salée physiologique, on porte le volume total de chaque tube à 1 cc. 5. Après agitation, on met les supports contenant les trois séries de tubes à l'étuve à 37° pendant une heure (température et durée du chauffage doivent être rigoureusement respectées). On ajoute sans délai, à chaque tube, le système hémolytique (1 centimètre cube de globules rouges de mouton dilués à 5 %, sensibilisés au préalable avec, tout au plus, 3 doses minima actives de sérum hémolytique).

(1) Nous désignons sous le nom d'antigène O l'antigène préparé de la façon décrite plus haut avec un virus O Vallée-Carré. Sous le nom d'antigène A, celui préparé avec un virus A Vallée-Carré. Sous le nom d'antigène C, celui préparé avec le virus C Riems.

Après l'agitation des tubes, on les remet à l'étuve à 37° pendant 30 minutes. Ensuite, on retire les tubes et on lit immédiatement les résultats. Nous donnons ici un exemple de la disposition de la réaction avec le résultat obtenu :

	Une heure d'étuve à 37°					Une demi-heure d'étuve à 35°	
	N° des tubes	Antigène	Sérum à étudier	Alexine dil. au 1/10 active à 0,1	Eau salée physiol.	Globules de mouton dil. au 1/100, sensibilisés	Résultats
	1	0,2	0,2	0,1	1	1	Non hémol.
	2	0,2	0,2	0,2	0,9	1	Id.
	3	0,2	0,2	0,3	0,8	1	Id.
	4	0,2	0,2	0,4	0,7	1	Id.
	5	0,2	0,2	0,5	0,6	1	Hémolyse.
Témoins-sérum..	1	»	0,2	0,1	1,2	1	Non hémol.
	2	»	0,2	0,2	1,1	1	Hémolyse.
	3	»	0,2	0,3	1	1	Id.
	4	»	0,2	0,4	0,9	1	Id.
	5	»	0,2	0,5	0,8	1	Id.
Témoins-antigène.	1	0,2	»	0,1	1,2	1	Hémolyse.
	2	0,2	»	0,2	1,1	1	Id.
	3	0,2	»	0,3	1	1	Id.

Dans ce cas, le résultat exposé au tableau ci-dessus montre que le sérum à étudier a fourni une réaction de fixation nettement positive. Il a fixé 3 doses minima actives d'alexine en présence de l'antigène.

Nous voyons, dans cette épreuve, que ce même sérum présente un pouvoir anticomplémentaire adsorbant une dose minima d'alexine. Comme nous l'avons dit plus haut, on rencontre des sérums de cobayes possédant un pouvoir anticomplémentaire assez fort. Quelquefois, il est tellement marqué que le sérum en question, à lui seul, peut adsorber 2 ou 3 doses minima actives de complément, C'est pour parer à ces inconvénients, sans être obligé de pratiquer une dilution du sérum à étudier, que nous employons toujours, au cours de nos réactions de fixation, 5 tubes témoins-sérum.

Dans ces conditions, pour l'interprétation des résultats de la réaction, le pouvoir antialexique des sérums à étudier n'est plus à redouter, même s'il ne possède que de faibles quantités de sensibilisatrice spécifique.

Une autre condition de réussite est le rapport à réaliser entre

la quantité d'antigène et celle du sérum. Nous avons trouvé que les meilleures réactions sont obtenues pour 0 cc. 2 d'antigène et 0 cc. 2 de sérum à examiner.

Avant d'exposer les différentes causes d'insuccès, nous résumons, dans le tableau ci-joint, les réactions que nous avons effectuées avec la technique que nous venons de décrire :

Antigènes	Sérum de cobayes								
	guéris de virus			vaccinés avec			hyperimmunisés avec		
	O Vallée	A Vallée	C Riems	O Vallée	A Vallée	C Riems	O Vallée	A Vallée	C Riems
O.....	67 ++ 5 + 3 —	17 — 1 + »	22 — » »	47 ++ 2 + »	12 — » »	9 — » »	58 ++ » »	14 — 2 + »	8 — » »
	75 R.	18 R.	22 R.	49 R.	12 R.	9 R.	58 R.	16 R.	8 R.
A.....	11 — »	72 ++ 5 +	22 — 3 +	12 — »	46 ++ 2 +	7 — »	31 — 2 +	54 ++ »	4 — »
	11 R.	77 R.	25 R.	12 R.	48 R.	7 R.	33 R.	54 R.	4 R.
C.....	6 — »	11 — 2 +	34 ++ 4 +	9 — »	16 — 2 +	29 ++ 3 +	62 — 2 +	47 — »	27 ++ 2 +
	6 R.	13 R.	38 R.	9 R.	18 R.	32 R.	64 R.	47 R.	29 R.

Légende : 67 ++ = 67 réactions nettement positives.
5 — = 5 réactions douteuses.
3 — = 3 réactions négatives.
75 R. = 75 réactions de fixation.

Comme on peut l'observer dans ce tableau, la réaction de fixation de l'alexine nous a donné de précieux renseignements en ce qui concerne le diagnostic différentiel de types de virus aphteux.

Nous n'avons pas pu obtenir de résultats positifs dans la totalité des cas ; mais tenant compte du fait de la difficulté de posséder un bon antigène, de la subtilité même de la réaction, nous estimons avoir obtenu des résultats encourageants.

Dans la majorité des réactions positives, nous avons constaté la fixation de 3 et 4 doses minima actives d'alexine.

La sensibilisatrice antiaphteuse apparaît régulièrement dans le sérum de cobayes infectés avec un virus aphteux dès le 12e jour. Quelquefois, nous l'avons pu mettre en évidence le 5e jour après l'inoculation infectante.

Le taux des anticorps augmente dans la suite pour atteindre un maximum entre les 24e et 35e jours après l'infection. La présence des anticorps est encore décelable par la réaction de fixation du complément même 112 jours après l'infection du cobaye. Nous n'avons jamais pratiqué de réactions au delà de cette limite.

L'hyperimmunisation du cobaye augmente le taux de la sensibilisatrice dans une proportion assez faible. Le sérum de cobayes qui, après guérison d'une infection, ont plusieurs fois été « rechargés » avec le même virus, fixait, dans la majorité des cas, 5 doses minima actives d'alexine. Nous avons vu rarement la déviation de 6 et 7 doses minima actives de complément.

QUELQUES CAUSES D'INSUCCÈS

Les causes d'insuccès sont multiples. Nous passerons rapidement en revue les différents éléments de la réaction et indiquerons les causes les plus fréquentes d'insuccès.

Antigène.

La disparition totale ou même une diminution de la virulence de l'antigène le rend complètement inerte pour la réaction de fixation du complément.

De même, l'apparition d'un grand pouvoir antialexique, dû aux différents agents microbiens qui se développent au sein de l'antigène, le rend inutilisable.

Pour éliminer les différents microbes qui se trouvent constamment dans les lambeaux d'aphtes et même dans la lymphe aphteuse, nous avons utilisé, de préférence, une centrifugation prolongée à grande vitesse des émulsions virulentes.

La filtration de ces émulsions, à travers des bougies poreuses, a le désavantage de retenir une grande quantité de virus.

Sérum à étudier.

Le pouvoir anticomplémentaire de certains sérums de cobayes inactivés peut rendre difficile l'exécution de la réaction. En employant autant de tubes témoins-sérum que de tubes de réaction proprement dite, on peut remédier à cette difficulté.

Il faut éviter l'inactivation des sérums à des températures supérieures à 55°. Même à cette température, le temps de 30 minutes ne doit pas être dépassé. Les sérums pollués ou

conservés depuis très longtemps peuvent fournir des résultats négatifs. Les sérums riches en hémoglobine peuvent également donner des réactions douteuses ou négatives.

Alexine.

Le titrage rigoureux de l'alexine est également une condition de réussite. Nous considérons la fixation de l'alexine comme la résultante d'une action de surface entre celle-ci et le complexe physico-chimique produit par le contact de l'anticorps et de l'antigène; or, ce complexe ne peut être représenté que par des quantités extrêmement minimes.

C'est pour cette raison que le plus petit excès d'alexine peut réactiver le système hémolytique et fournir ainsi des résultats absolument négatifs.

CONCLUSIONS

Grâce à la réaction de fixation du complément, on peut, chez le cobaye, dans la grande majorité des cas, différencier les différents types de virus aphteux par la mise en évidence de la sensibilisatrice antiaphteuse correspondante.

Certes, cette réaction, de même que dans d'autres maladies, ne peut donner que des indications relatives. Si une réaction positive indique incontestablement la présence dans le sérum de la sensibilisatrice antiaphteuse homologue, l'absence d'une telle réaction n'implique pas nécessairement son inexistence.

Pour la réussite de la réaction, l'exécution rigoureuse de la technique que nous avons exposée plus haut et le titrage aussi exact que possible des différents éléments sont des conditions absolument indispensables.

BIBLIOGRAPHIE

Mezincescu (O.), Baroni (V.) et Calinescu (I.) : *Annales Institut Pasteur*, 1923, p. 1056.

Urbain (Ach.) : « La réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes ou parasitaires communes à l'homme et aux animaux. » (*Edition de la Revue de Pathologie comparée et d'Hygiène générale*, Paris, 1927, pp. 174-175.)

Olitsky (Peter-K.), Traum (Jacob) et Schoening (Harry-W.) : « Report of the foot and mouth disease Commission of the United States Department of Agriculture. » (*Technical Bulletin*, 1928, n° 76, p. 98.)

Ciuca (Al.) : *The Journal of Hygiene*, 1929, t. XXVIII, n° 4, p. 325.

Trautwein (K.) et Reppin (K.) : *Arch. für Wiss. und Prakt. Tierheilkunde*, 1930, t. 62, n° 5, p. 479.

Flaum (Alfred) : *Acta Pathologica et Microb. Scandinavica*, 1931, t. VIII, p. 316.

LA MALADIE INAPPARENTE COMME RÉSERVOIR HUMAIN DE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE. SON IMPORTANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE [1]

par

M. CIUCA, J. BALTEANU et N. CONSTANTINESCO

(Travail fait dans le Laboratoire d'Hygiène, le Laboratoire de Pathologie générale de la Faculté de Médecine et l'Hôpital militaire de Jassy)

D'après Ch. Nicolle et Lebailly, l'infection inapparente est « une maladie d'ordinaire aiguë, qui a son incubation et son évolution, caractérisée par le pouvoir infectant du sang ou de tout autre organe, et qui laisse à sa suite une immunité plus ou moins durable ».

Aujourd'hui, la forme inapparente de certaines maladies est généralement admise.

On connaît la *forme inapparente du typhus* chez les animaux d'expériences : cobayes (Ch. Nicolle et Lebailly [1]), rats blancs ou gris et souris (Ch. Nicolle [2]), oiseaux (E. Seliwanoff [3]), chien (D. Combiesco et J. Anghelesco [4], P. Durand [5], D. Combiesco, C. Popesco et M^lle^ Vantu [6]), chat (M. Ciuca, J. Balteanu, N. Constantinesco [7]).

Une autre fièvre exanthématique, *la fièvre boutonneuse,* se montre constamment inapparente chez l'animal réservoir de virus, le chien (D. Combiesco [8], P. Durand [9]), et chez le spermophile (G. Blanc et J. Caminopetros [10]).

La fièvre récurrente (Sp. Normandi) présente souvent une forme inapparente chez l'homme (Ch. Nicolle [11]).

D'après les recherches de Kolle et Schlossberger [12] et celles

(1) Travail reçu le 15 février 1935.

de Levaditi et ses collaborateurs [13], la *syphilis* revêt également chez la souris une forme cliniquement inapparente.

G. Blanc et J. Caminopetros [14] ont prouvé l'existence de formes inapparentes de la *dengue* chez l'homme. Le moustique vecteur peut s'infecter sur un sujet sain en apparence et transmettre ce virus à un autre sujet qui pourrait présenter une maladie apparente.

A. Netter, C. Levaditi et G. Hornus [15] ont constaté que les personnes saines qui n'ont jamais eu la *poliomyélite* présentent, dans un pourcentage de 80 %, un sérum doué d'un pouvoir virulicide *in vitro* pour le virus poliomyélitique. Un tel fait ne pourrait s'expliquer que par une *atteinte antérieure par la poliomyélite sous forme de maladie inapparente.*

Les formes inapparentes des maladies infectieuses « constituent un livre nouveau de la médecine, celui de la *sous-pathologie*. Ce livre prend une place chaque jour plus importante, à côté de celui de la pathologie à symptômes » (Ch. Nicolle).

On devine le rôle important, insoupçonné jusqu'à Ch. Nicolle, que peuvent jouer dans l'épidémiologie les infections inapparentes, et l'on commence à entrevoir de nouveaux facteurs qui pourraient expliquer le maintien de l'endémicité et l'apparition parfois mystérieuse de cas sporadiques. L'épidémiologie du typhus exanthématique en Roumanie, depuis 1916 à 1934, pourrait y trouver de nouvelles suggestions.

Chez l'homme le virus du typhus exanthématique peut provoquer également des formes inapparentes. Ramsine [16] a trouvé parmi les contacts, dans un foyer de typhus en Serbie, un certain nombre d'individus qui présentaient une réaction Weil-Félix positive; le sang de l'un d'eux a donné au cobaye le typhus expérimental.

Des faits similaires ont été signalés dans des foyers de typhus exanthématique par Barykine, Minervine et Kompanéez [17], et Afouassiewa et Trejak [18], chez des personnes qui n'ont jamais fait l'infection, ainsi que chez des personnes qui l'ont subie antérieurement.

A. Kuteischikow, M. Dosser et G. Bernhoff [19], qui avaient contracté le typhus exanthématique pendant l'épidémie qui sévissait en 1920-21, ont démontré sur eux-mêmes l'existence de la forme inapparente de la maladie. En 1930, ils se sont laissé piquer par des poux infectés avec le virus du typhus exanthématique. Chez tous les trois, on a remarqué une certaine hausse du titre agglutinant pour le Proteus X 19, en absence de tout symp-

tôme morbide. Il s'agissait d'une infection inapparente, car le sang de l'un d'eux, inoculé au cobaye, a provoqué le typhus expérimental transmissible en série (9 passages positifs).

Nous croyons apporter une nouvelle preuve expérimentale de la forme inapparente du typhus, dans une collectivité humaine où la maladie sévissait au cours du mois de janvier 1934 (1).

Il s'agit d'une colonie d'ouvriers agricoles « Hal » (des environs de la ville de Jassy), dont les 20 membres, âgés de 20 à 22 ans, couchaient dans la même pièce et étaient tous — sans exception — excessivement parasités.

A deux jours d'intervalle, le 8 et le 10 janvier 1934, 6 sur 20 ouvriers nous ont été envoyés à l'hôpital de maladies contagieuses « Izolarea », atteints de typhus exanthématique. Les conditions de promiscuité des malades et des personnes bien portantes rappelaient celles de la dernière guerre ou celle d'une cage d'animaux en expérience.

Les 14 autres sujets, épouillés, leurs vêtements déparasités, ont été mis sous l'observation médicale du service sanitaire de la municipalité pendant 18 jours. Sur les 14 contacts, aucun n'a manifesté des signes morbides.

Recherches. — Des prises de sang chez les contacts, répétées deux fois à 10 jours d'intervalle, nous ont permis de pratiquer la réaction Weil-Félix et d'essayer l'infection du cobaye.

La réaction agglutinante pour le Proteus X 19 était positive chez les 14 contacts, le titre variant de 1/100 à 1/300.

Le sang provenant de 6 de ces contacts, inoculé dans le péritoine du cobaye, n'était pas virulent. Les animaux n'ont présenté aucune réaction fébrile; réinoculés, quatre semaines après, avec du sang virulent d'un malade de typhus exanthématique, tous les cobayes ont pris la maladie.

Le sang des 8 autres contacts s'est montré virulent pour le cobaye : une quantité de 3 centimètres cubes de sang d'homme parfaitement bien portant, inoculée dans le péritoine du cobaye, donnait la maladie expérimentale.

Nous donnerons ci-après les détails de la marche de nos essais effectués avec le sang de deux de ces contacts, *Ach...* et *Gl...* ; des circonstances particulières nous ont permis de suivre *le passage*

(1) Qu'il nous soit permis d'adresser, ici même, toute notre gratitude au médecin-chef de la municipalité de Jassy, M. le docteur Cadere, et à M. le docteur Argetoianu, qui ont bien voulu nous prêter leur concours précieux pour l'enquête épidémiologique et le prélèvement des produits pathologiques.

du virus de la maladie inapparente du typhus classique chez l'homme en passant par l'organisme du cobaye et du rat.

Les contacts *Ach...* et *Gl...* n'ont présenté aucun symptôme morbide, au cours des 18 jours d'observation imposés par les autorités sanitaires de la municipalité. La *réaction Weil-Félix*, prati-

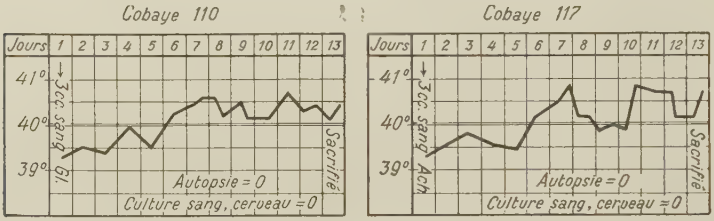


Fig. 1. — Courbes thermiques représentant la réaction fébrile des cobayes 110 et 117, à la suite de l'inoculation de sang de contacts (*Ach...* et *Gl...*).

quée avec leur sang, montrait un titre agglutinant de 1 p. 300 pour *Ach...* et 1 p. 160 pour *Gl...*

Le cobaye 110, inoculé avec 3 centimètres cubes de sang de *Gl...*, ainsi que le cobaye 117, inoculé avec une quantité égale

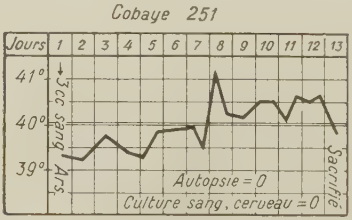


Fig. 2. — Courbe thermique représentant la réaction fébrile du cobaye 251 à la suite de l'inoculation de 3 centimètres cubes de sang du patient *Ars...*

de sang de *Ach...*, ont présenté, 6 jours après, une réaction fébrile de 40°1 à 40°7 (fig. 1).

Ces cobayes ont été sacrifiés en pleine fièvre; on ne constate pas à l'autopsie des lésions macroscopiques, le sang ensemencé s'est montré stérile. Les cerveaux des deux cobayes ont été émulsionnés en 40 centimètres cubes d'eau physiologique.

On inocule 1 centimètre cube du liquide surnageant de cette émulsion cérébrale à un malade, *Ars...*, dont l'état mental nécessitait un traitement pyréthogène. *Pendant les 30 jours qu'il a été*

tenu sous notre observation, nous n'avons enregistré aucune ascension thermique.

Une quantité de 3 centimètres cubes de sang, prise le 20e jour après l'inoculation et inoculée dans le péritoine du cobaye 251, a provoqué cependant une réaction fébrile des plus caractéristiques : après une incubation de 7 jours, la température de l'animal monte brusquement à 41°1 et reste en plateau autour de 40°5 pendant 6 jours, quand l'animal fut sacrifié (fig. 2).

On ne constate pas des lésions macroscopiques des organes, les ensemencements du sang et des organes se sont montrés stériles.

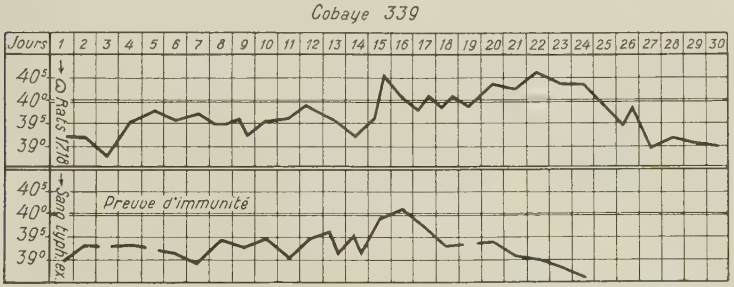


Fig. 3. — *En haut* : courbe thermique représentant la réaction fébrile du cobaye 339 à la suite de l'inoculation d'émulsion de cerveau des rats nos 17 et 18.

En bas : épreuve de l'immunité par inoculation, 54 jours après, de 3 centimètres cubes de sang de malade de typhus exanthématique (réaction atténuée).

Faute de cobayes, nous avons inoculé une émulsion de substance cérébrale du cobaye 251 à 2 rats (nos 17 et 18) qui ont été sacrifiés 9 jours après. Le cerveau des rats a été divisé en deux parties :

a) Une partie a été inoculée dans le péritoine du cobaye 339 ; après une incubation de 14 jours, la fièvre apparaît et se maintient pendant 10 jours entre 40° et 40°5 (fig. 3). La preuve de l'immunité faite avec du sang virulent de typhique, le 16 mai (soit le 54e jour après l'infection et le 30e jour d'apyrexie), était démonstrative : le cobaye 339, inoculé avec 3 centimètres cubes de sang d'un malade, *Onof...*, atteint de typhus en pleine maladie, ne présente pas le tableau clinique de la maladie expérimentale; la température du cobaye a oscillé entre 38°9 et 39°5 pendant les 14 premiers jours; elle est légèrement montée à 40° le 15e et

le 16e jour, et elle est tombée autour de 39° sans avoir tendance à remonter de nouveau.

Le cobaye témoin 692, inoculé avec la même quantité de sang virulent, fait la maladie expérimentale après une incubation de

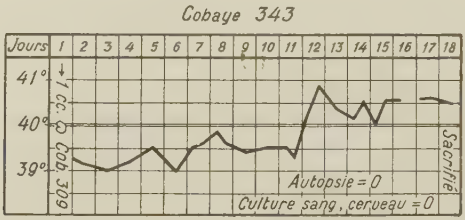


Fig. 4. — Courbe thermique du cobaye 343, inoculé avec émulsion cérébrale du cobaye 309, dont le cerveau a servi à l'inoculation du patient *Lun...*

11 jours suivie d'un état fébrile (température entre 40°2-40°7) pendant 6 jours.

b) La deuxième partie du cerveau des rats nos 17 et 18, inoculée au cobaye 309, a reproduit la maladie; le cobaye 343, inoculé

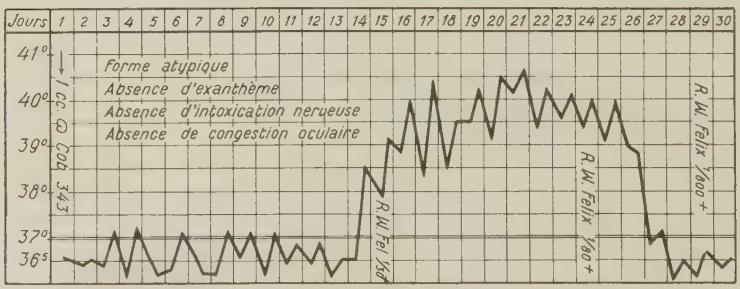

Patient Lun. (Traitement pyréthogène)
Jours 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
41°
40°
39°
38°
37°
36°5
1 cc. ♀ Cob 343
Forme atypique
Absence d'exanthème
Absence d'intoxication nerveuse
Absence de congestion oculaire
R. W. Felix 1/60+
R. W. Felix 1/60+
R. W. Felix 1/60+

Fig. 5. — Courbe thermique du patient *Lun...*, inoculé avec 1 centimètre cube d'émulsion cérébrale 1/20 du cobaye 343.

avec une émulsion de cerveau du cobaye 309, présente une maladie fébrile caractéristique (température entre 40°1 et 40°9 après 11 jours d'incubation) (fig. 4).

Le cerveau du cobaye 343 (sacrifié le 7e jour de fièvre), émulsionné dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique, a été également utilisé en but de traitement pyréthogène chez un patient, *Lun...*, de 17 ans, dont l'état mental exigeait ce traitement.

Le 11 avril 1934, le patient *Lun...* a reçu, sous la peau de la cuisse, 1 centimètre cube du liquide surnageant de cette émulsion. Pendant les 13 premiers jours, la température du malade ne dépasse pas 37°. Le soir du 14e jour, la température monte brusquement à 38°5; les jours suivants à 39°2, 40°, 40°4, et reste en plateau entre 39° et 40°2 pendant 13 jours, quand le malade entre en convalescence. En dehors de cette courbe fébrile caractéristique, le malade ne présente pas de symptômes d'intoxication du système nerveux, *ni éruption cutanée, ni congestion des conjonctives.*

La réaction Weil-Félix a été négative jusqu'au 11e jour de la maladie; 2 jours avant la chute de la température, le pouvoir agglutinant monte de 1/30 à 1/80, et le *3e jour de convalescence, la réaction a été positive à un titre de 1/800.*

Il s'agissait donc d'une forme de typhus *anexanthématique* et à symptomatologie incomplète, *une maladie atypique* (fig. 5).

⁂

Maladie inapparente et immunité. — Le lecteur nous permettra de rappeler ici que 8 sur les 20 personnes d'un foyer clos, presque familial, de typhus exanthématique, ont présenté une forme inapparente de la maladie, le virus pouvant être mis en évidence à voie expérimentale.

Un hasard nous a permis de contrôler, dans des conditions presque expérimentales, l'état d'immunité de nos malades. En vérité, l'état mental des deux patients *Ars...* et *Lun...* ayant nécessité la malariothérapie, ils reçoivent, 106 jours *(Ars...)* et deux semaines *(Lun...)* plus tard, 6 centimètres cubes d'un donneur paludique qui se trouvait incidentalement en incubation de typhus. Deux jours après que son sang avait été inoculé en but de malariothérapie aux patients *Ars...* et *Lun...*, son typhus éclate. Cet accident nous a donné la possibilité d'observer la manière dont se sont comportés, envers la réinfection exanthématique, les deux sujets que nous croyions d'ailleurs immunisés contre cette infection. Les choses ont évolué de la manière suivante :

I. — Le malade *Ars...*, qui avait fait une infection expérimentale inapparente 106 jours auparavant, a fait une forme de typhus à symptomatologie complète après l'inoculation de sang virulent; l'incubation a été de 13 jours.

II. — Le malade *Lun...* (voir fig. 5), qui avait fait un typhus fébrile atypique 15 jours avant, inoculé dans les mêmes conditions, n'a présenté aucun symptôme de maladie; cette atteinte lui avait conféré une immunité acquise.

*
**

Nous avons également isolé du sang des 6 autres contacts bien portants, le virus typhique qui détermine chez le cobaye l'apparition d'une maladie transmissible en série.

Contact Spiv... — Réaction Weil-Félix positive à 1/160. Le sang (3 centimètres cubes) de ce contact inoculé au cobaye 112 a provoqué, après 5 jours d'incubation, une réaction fébrile

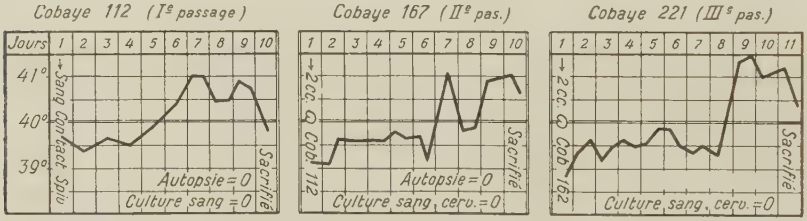


Fig. 6. — Courbes thermiques des cobayes 112, 167 et 221, représentant les trois premiers passages du virus isolé chez le contact sain *Spiv...*

intense (température entre 40°4-41°). Le virus a subi 3 passages successifs (fig. 6).

Au cours du 4e passage, il a perdu sa virulence : les cobayes ne faisaient plus d'ascension thermique ou à peine (39°8-40°) et de très courte durée (2 jours).

Ces derniers cobayes, éprouvés à la suite avec une émulsion virulente de cerveau de cobaye typhique (2 centimètres cubes d'émulsion épaisse), se sont montrés réceptifs comme les cobayes témoins.

Fig. 7. — Circulation du virus isolé, chez les contacts *Ach...* et *Gl...*, d'un foyer de typhus. Ce virus, passé par les cobayes 110, 117 (1er passage, maladie fébrile), provoque une infection inapparente chez le patient *Ars...*, et de ce dernier, après 4 autres passages par cobaye et rat, il provoque chez le patient *Lun...* une forme atypique de typhus.

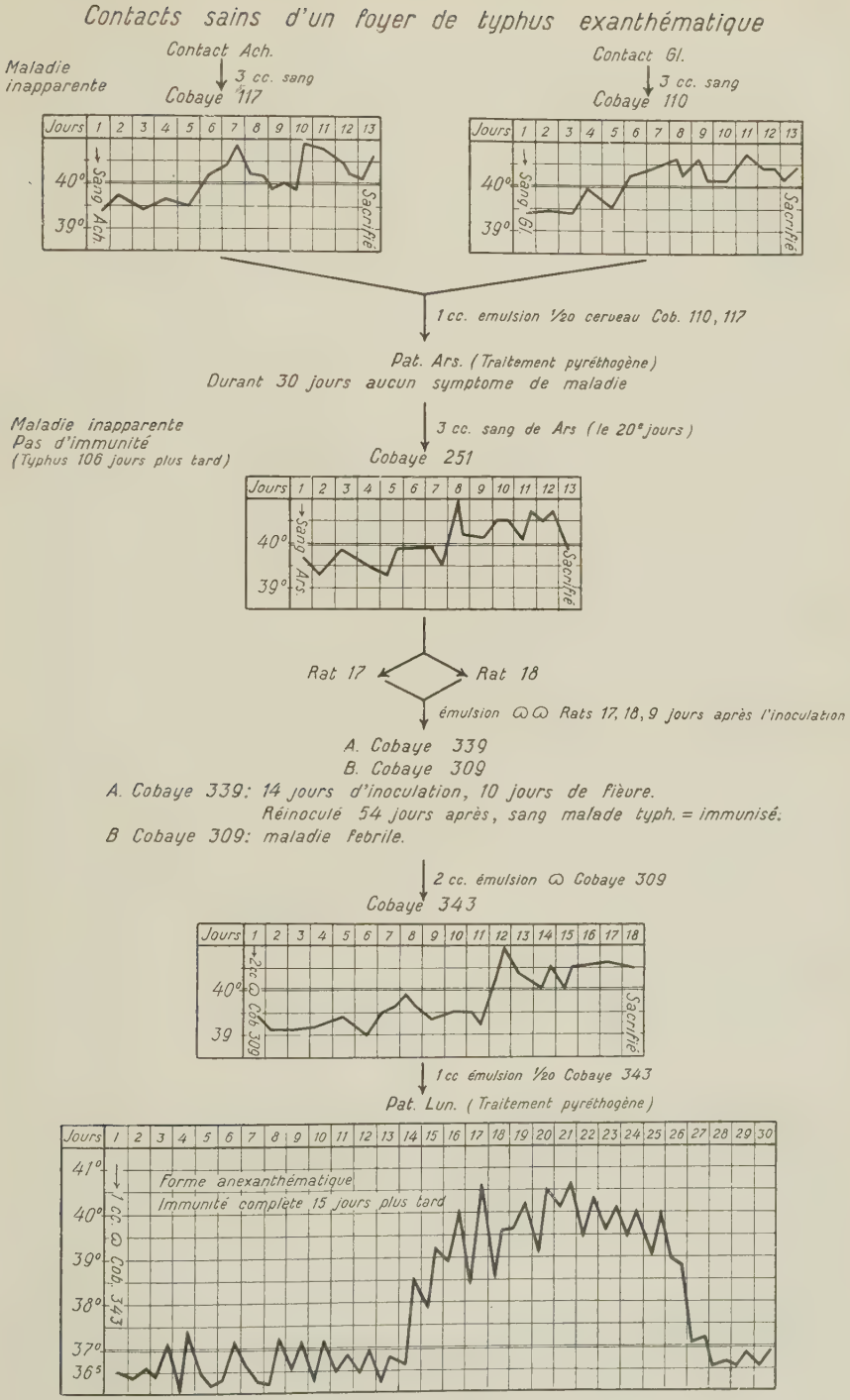

Contacts sains d'un foyer de typhus exanthématique
Maladie inapparente
Contact Ach.
3 cc. sang
Cobaye 117
Contact Gl.
3 cc. sang
Cobaye 110
Jours 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
40°
39°
Sang Ach.
Sang Gl.
Sacrifié
1 cc. emulsion 1/20 cerveau Cob. 110, 117
Pat. Ars. (Traitement pyréthogène)
Durant 30 jours aucun symptome de maladie
Maladie inapparente
Pas d'immunité
(Typhus 106 jours plus tard)
3 cc. sang de Ars (le 20e jours)
Cobaye 251
Sang Ars
Rat 17
Rat 18
émulsion ⊙⊙ Rats 17, 18, 9 jours après l'inoculation
A. Cobaye 339
B. Cobaye 309
A. Cobaye 339: 14 jours d'inoculation, 10 jours de fièvre.
Réinoculé 54 jours après, sang malade typh. = immunisé.
B Cobaye 309: maladie febrile.
2 cc. émulsion ⊙ Cobaye 309
Cobaye 343
Jours 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
40°
39
2 cc. ⊙ Cob 309
Sacrifié
1 cc émulsion 1/20 Cobaye 343
Pat. Lun. (Traitement pyréthogène)
Jours 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
41°
40°
39°
38°
37°
36°
Forme anexanthématique
Immunité complète 15 jours plus tard
1 cc. ⊙ Cob. 343

Fig. 7.

Contact Ucit... — Réaction Weil-Félix positive à 1/60. 3 centimètres cubes de sang inoculé au cobaye 51 provoquent, après 5 jours d'incubation, une réaction fébrile intense, 40°2 à 40°7.

10 jours après la 1re saignée, on fait une nouvelle récolte du sang de ce contact; l'inoculation au cobaye 96 ne donne pas la maladie. Eprouvé le 35e jour avec du virus exanthématique, le cobaye 6 fait la maladie caractéristique.

Contact Bar... — Réaction Weil-Félix positive à 1/160, agglutination fine à 1/300. Le cobaye 52, inoculé avec 3 centimètres cubes de sang provenant de ce contact, fait une maladie fébrile 5 jours plus tard; l'émulsion de cerveau, inoculée au cobaye 121, provoque une forte réaction fébrile après 11 jours d'incubation; l'incubation a été de 7 jours au troisième passage (cobaye 198).

Contact Sos... — Réaction Weil-Félix positive à 1/300. Le sang de cette jeune fille, récolté 2 fois à 10 jours d'intervalle, a provoqué chez les cobayes, après 7 à 8 jours d'incubation, une maladie fébrile transmissible en série pendant 3 passages.

Contact Lisa Bih... — Réaction Weil-Félix positive à 1/300. Nous avons obtenu, du sang de ce sujet, un virus qui a subi 3 passages par le cobaye; le 4e passage a été négatif.

Contact T. Ion... — Réaction Weil-Félix positive à 1/300. Pendant la guerre, lorsqu'il était jeune enfant, ses parents et son frère aîné sont morts de typhus exanthématique. Il ne se rappelle pas avoir été malade à cette époque.

Le cobaye 66, inoculé avec 3 centimètres cubes de son sang, a fait, après 6 jours d'incubation, une réaction fébrile nette (température, 40°-40°2). Nous avons effectué, à partir du sang de ce cobaye, 3 passages successifs. Le 4e passage est resté négatif.

Nous tâcherons de représenter dans un graphique (fig. 7) l'ordre des passages obtenus, ayant l'origine dans le sang virulent de 2 cas de maladie inapparente.

***

Discussion. — L'explication du mécanisme de la maladie inapparente, d'après les données qu'on connaît actuellement, réside d'un côté dans le changement survenu dans la virulence de l'agent pathogène, de l'autre côté dans l'état de réceptivité de l'organisme infecté.

Nous savons que, pour la plupart des germes, la virulence n'est pas une propriété immuable. Le virus exanthématique isolé du sang des contacts sains du foyer épidémique était probable-

ment trop faible pour provoquer une maladie typique chez ces porteurs. Ce virus n'a donné qu'une infection également inapparente au patient *Ars...*; le sang (6 centimètres cubes) de ce dernier a été cependant virulent pour le cobaye. Le patient *Ars...*, malgré le fait d'avoir hébergé ce virus un nombre de jours, n'a pas acquis un degré d'immunité. Il a fait le typhus 106 jours plus tard dans les conditions décrites ci-dessous.

Organismes peu réceptifs. — Tenant compte que tous les membres de cette colonie agricole étaient des Bessarabiens, où le typhus exanthématique est devenu presque endémique, il est fort probable que leur état de résistance était la conséquence d'une infection antérieure.

Les résultats de l'expérience de Kuteischikow, Dosser et Bernhof [19] paraissent confirmer expérimentalement notre interprétation. Le sang d'un d'entre eux, inoculé par voie péritonéale au cobaye, s'est montré virulent : l'animal a fait la maladie expérimentale. Cet auteur jouissait probablement d'un état d'immunité assez forte, qui l'a préservé d'une infection typhique avec symptômes morbides, mais insuffisante pour empêcher le développement sous-clinique (sans symptômes) du virus dans son organisme (maladie inapparente).

Il résulte donc que, dans certains cas, la forme inapparente de la maladie peut être considérée comme la conséquence d'un état d'immunité acquise.

Cette forme sous-clinique du typhus apparaît comme le résultat d'un état d'équilibre qui s'établit entre le virus et un organisme moins réceptif.

⁂

Conclusions. — *Des recherches faites dans un foyer clos, quasi familial, de typhus exanthématique en vue de déceler la maladie inapparente, mènent aux conclusions suivantes :*

Le sang de 8 sur 14 contacts à réaction Weil-Félix positive (1/160 à 1/320), s'est montré virulent pour les cobayes. L'existence d'une forme inapparente du typhus chez les contacts est donc confirmée. Le virus disparaît du sang des contacts dans les 10 à 15 jours.

Le virus de passage de la maladie inapparente a reproduit chez l'homme, dans un cas, la même forme de maladie inapparente (présence du virus dans le sang ; aucun symptôme morbide) non suivie d'immunité. Dans un autre cas, ce même virus a provo-

qué une forme anexanthématique de typhus (13 jours de fièvre) suivie d'une forte immunité.

Au point de vue de l'épidémiologie du typhus, l'existence de la maladie inapparente pourrait apporter une explication au maintien de l'endémicité du typhus dans certaines régions (Bessarabie par exemple), avec interruption de cas cliniques évidents pendant les six mois d'été. C'est la maladie inapparente qui pourrait expliquer également l'apparition du typhus sous forme de cas sporadiques d'origine difficile à déterminer.

Au point de vue de la prophylaxie du typhus, ces faits démontrent une fois de plus l'importance du déparasitage en masse dans les foyers d'épidémie, pour rendre également inoffensifs les réservoirs de virus dus à la maladie inapparente.

BIBLIOGRAPHIE

1. Nicolle (Ch.) et Lebailly (Ch.) : *C. R. Acad. Sciences*, 1919, p. 800. *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1919, 11, p. 1.
2. Nicolle (Ch.) : *C. R. Acad. Sciences*, 1924, p. 375.
3. Seliwanoff (E.) : *C. R. Soc. Biologie*, 1924, 91, p. 703.
4. Combiesco (D.) et Angelesco (J.) : *C. R. Soc. Biologie*, 1933, 113, p. 497.
5. Durand (P.) : *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1933, 21, p. 484.
6. Combiesco (D.), Popesco (C.) et Vantu (M^lle^) : *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 115, p. 996.
7. Ciuca (M.), Balteano (J.) et Constantinesco (N.) : *C. R. Soc. Biol. de Jassy*, séance du 28 juin 1934, t. CXVII, p. 514.
8. Combiesco (D.) : *C. R. Soc. Biologie*, 1932, 109, p. 793.
9. Durand (P.) : *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1932, 21, p. 239.
10. Blanc (G.) et Caminopetros (J.) : *C. R. Acad. Sciences*, 1931, 193, p. 258.
11. Nicolle (Ch.) : *Destin des maladies infectieuses*, 1933, p. 120.
12. Kolle et Schlossberger : *Deut. Med. Woch.*, 1926, n° 30, p. 1245 ; 128, n° 4, p. 129.
13. Levaditi (C.), Vaisman (A.), Schoen (R.) et Mezger (J.) : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, 50, p. 222.
14. Blanc (G.) et Caminopetros (J.) : *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1930, 44, p. 367.
15. Netter (A.), Levaditi (C.) et Hornus (G.) : *Bulletin de l'Acad. de Méd.*, 1933, 109, p. 529.
16. Ramsine (S.) : *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1929, 18, p. 247.
17. Barykine (W.), Minervine (S.) et Kompanéez (A.) : *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1930, 19, p. 422.
18. Afouassiewa (A.) et Tretjak : *Zentr. f. Bakt.*, 1933, 130, p. 123.
19. Kuteischikow (A.), Dosser (M.) et Bernhoff (G.) : *Zentr. f. Bakt.*, 1933, 129, p. 262.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ THÉRAPEUTIQUE COMPARÉE DE L'ATÉBRINE SEULE OU ASSOCIÉE AVEC D'AUTRES PRODUITS ANTIPALUDÉENS DANS L'INFECTION NATURELLE (1)

par

M. CIUCA, M. FRANKE, E. ALEXA

avec la collaboration de

C. AGAPI, E. LUPU, E. MANOLIU

(Hôpital Izolarea et Laboratoire régional de Iassy)

Depuis la découverte de l'atébrine par Mietsch et Mauss et les premières recherches cliniques de Kikut, Sioli, Green, James et Shute, Peter, Mezincesco, Peter et Cornelson, Cordes, Orenstein, Thonnard, Neumann, etc., etc., sur son efficacité dans le traitement du paludisme, la littérature médicale sur l'efficacité de ce produit utilisé seul ou associé avec la quinine, ou la plasmoquine, compte à l'heure présente une vaste documentation, recueillie sur le terrain dans plusieurs pays paludéens.

Un examen critique des résultats des recherches exécutées jusqu'au 1er janvier 1933 (autant dans le laboratoire que dans les cliniques et sur le terrain) se trouve dans le rapport de la Commission du paludisme de la Société des Nations (2). Il résulte de cette étude que l'atébrine, sans posséder une action destructrice sur les sporozoïtes et les gamétocytes, exerce comme la quinine une action thérapeutique nette sur les schizontes et la fièvre.

Les recherches de James, d'une part; celles de Kikut et Giovanolla, d'autre part, sur l'action prophylactique (prophylaxie causale), ont conclu à une prolongation de la période d'incubation

(1) Ce travail a été fait avec l'aide de l'Organisation d'Hygiène de la Société des Nations.

(2) « La thérapeutique du paludisme. » (*Bulletin trimestriel de l'Organisation d'Hygiène de la Société des Nations*, vol. II, n° 2, juin 1933.

due à l'excrétion lente de l'atébrine et à sa rétention dans le corps.

Parmi les pays qui ont donné une grande extension à l'usage de l'atébrine autant dans le traitement individuel que pour le traitement en masse des collectivités en but prophylactique, la Malaisie possède actuellement quelques milliers d'observations recueillies, dans la grande majorité des cas, dans les dispensaires et sur le terrain. Une revue générale faite par le docteur Green (1), sur les phénomènes toxiques observés au cours du traitement, a soulevé récemment une discussion des plus intéressantes ; ces phénomènes ont été — bien entendu — mieux observés au lit du malade que dans la pratique courante d'un traitement sur le terrain. Malgré les opinions forcément différentes des participants à cette discussion, il résulte que, dans 2 % des cas traités avec de l'atébrine, il y a des phénomènes secondaires plus ou moins désagréables. Des maux de tête violents, des gastralgies et des cas d'excitation cérébrale n'ont été observés que dans 1 % des cas traités avec ce produit. Pour le docteur Hoops, l'atébrine est actuellement le meilleur produit antipaludéen pour les conditions locales de la Malaisie.

Dans ce même pays l'atébrine trouve, dans certaines conditions spéciales de quelques plantations, une application des plus favorables dans le *traitement en masse*, et a permis une réduction, et même la suppression, de la lutte antilarvaire devenue trop chère pour une petite collectivité. Les statistiques si intéressantes de R.-B. Wallace en font preuve.

Il est inutile d'ajouter que le désaccord apparent entre les différents chercheurs, autant sur l'efficacité que la fréquence des troubles secondaires, tient à un nombre de facteurs locaux et entre autres : au stade différent de la maladie; au degré différent d'immunité acquise des malades, appartenant à autant de régions paludéennes, à l'endémicité et épidémicité tellement différentes ; à une susceptibilité différente des différents malades. De l'expérience de ces mêmes auteurs, l'action de l'atébrine sur les schizontes serait beaucoup plus accentuée que celle de la quinine; le pourcentage des rechutes serait plus bas que parmi les cas traités avec de la quinine.

Vu l'importance pour l'avenir de la lutte antipaludéenne d'un nouveau produit, il est certain que toute contribution apportée par un examen soigné des malades hospitalisés est utile.

(1) Green (R.) : « Toxique effects associated with the use of atebrine. » (*Malayan Medical Journal*, vol. IX, n° 1, 1934.)

Ceci nous a déterminé à apporter *nos observations sur 110 paludéens traités* pendant 7 jours, comparativement avec de l'atébrine seule ou associée à la quinine ou à la plasmoquine. Un nombre réduit de malades traités avec de la quinine nous a également servi de témoin.

Tous nos malades hospitalisés étaient pesés, la température prise toutes les 4 heures; un examen journalier du sang : frottis et goutte épaisse, nous permettait de compter le nombre des parasites sur 100 champs et déceler le parasitisme le plus discret. Les doses de médicaments utilisés pour les adultes et par jour ont été les suivants :

a) atébrine, 0,30 ctgr. ;
b) atébrine, 0,30 + plasmoquine, 0,02;
c) quinine sulf., 0,50 + atébrine, 0,30 ;
d) quinine sulf., 1 gramme ;
e) quinine sulf., 0,50 + plasmoquine, 0,02 gr.

La dose journalière de médicament (simple ou combiné) était administrée en 3 fois sous le contrôle direct de l'un de nous. On notait chaque jour tous les phénomènes secondaires observés au cours du traitement, ainsi que l'intensité de coloration de la peau chez les malades traités avec de l'atébrine et les phénomènes toxiques observés chez les malades qui recevaient un traitement mixte.

Dans 60 de ces cas, qui présentaient une forme clinique sérieuse, on a tâché d'établir le degré d'insuffisance du foie et du rein avant et à la fin du traitement. Les résultats des recherches chimiques ont fait l'objet d'un mémoire de nos collègues de l'Institut d'Hygiène de Jassy, dans les *Archives roumaines de Pathologie expérimentale et de Microbiologie* (t. VII, n° 3).

FIÈVRE QUARTE

Au point de vue de la forme clinique sur les 40 cas de fièvre quarte traités : 2 présentaient des accès de première invasion; 20 présentaient des accès quotidiens; 3 une double quarte; 8 une quarte simple; 7 des formes irrégulières. 2 cas étaient sous-fébriles.

Nous montrons, dans le tableau n° 1, le délai de la disparition de la fièvre, des schizontes et des gamétocytes après un ou plu-

sieurs jours de traitement, la diminution de la rate à la fin du traitement, la période d'apparition de la coloration de la peau. Les quantités d'atébrine variaient, par kilo de poids de malade et par jour, de 0,0058 à 0 gr. 0074.

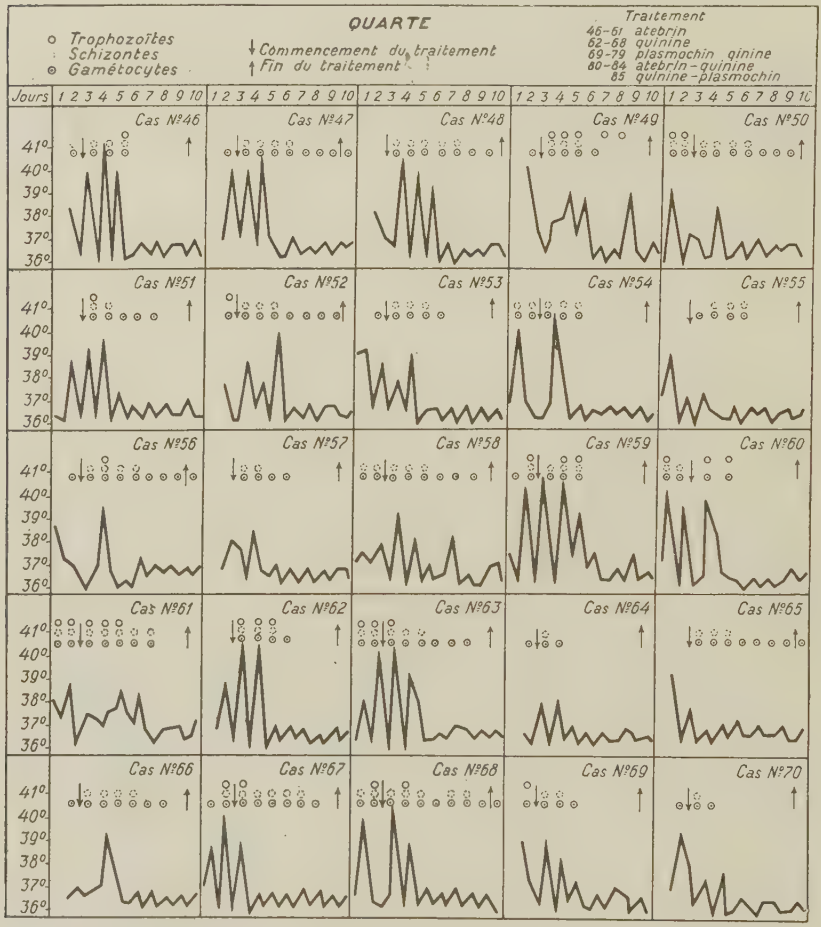


FIG. 1.

Action sur la fièvre. — Après les 2 premiers jours de traitement, la fièvre est disparue dans 4 sur 5 cas traités avec de la quinine combinée avec l'atébrine; dans 6 sur 7 cas traités avec la quinine et dans 8 sur 18 cas traités avec l'atébrine seule, et dans 6 sur 11 cas traités à l'atébrine mélangée avec plasmoquine;

dans 2 cas : l'un traité avec l'atébrine seule, l'autre avec atébrine-quinine, la fièvre n'est disparue qu'après la 5e dose du médicament.

Schizontes. — Après les 3 premiers jours de traitement, les schizontes persistent dans 2 sur 16 cas traités à l'atébrine; dans 2 sur 7 cas traités avec la quinine; dans 1 sur 11 cas traités avec atébrine et plasmoquine; dans 3 sur 5 cas traités avec atébrine-quinine.

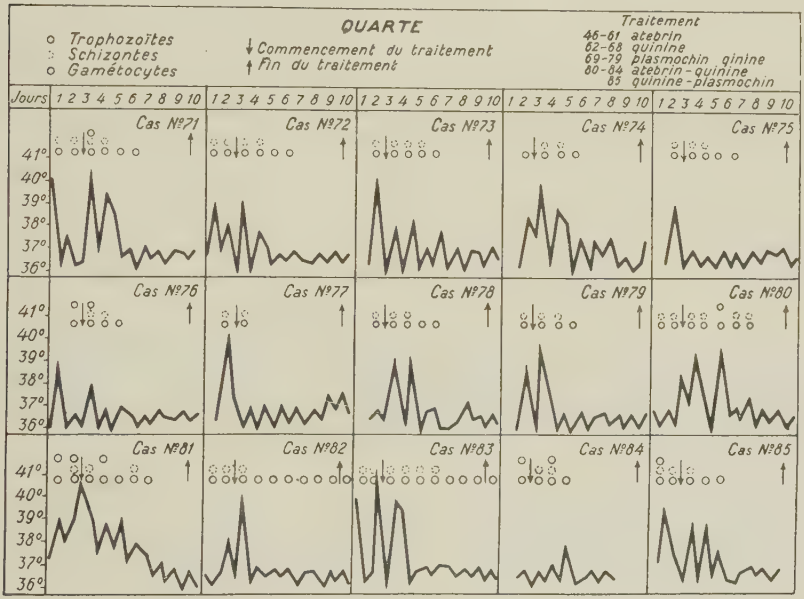


FIG. 1 *bis.*

Après le 5e jour de traitement, il n'y avait plus de schizontes dans le sang de nos malades traités avec l'un de ces produits.

Gamétocytes. — Les données du tableau montrent que, dans les conditions de traitement de nos cas, une période de 5 jours avec la quinine ou l'atébrine seule ne suffirait pas. Dans 4 sur 40 cas traités les gamétocytes n'ont disparu qu'après la 7e dose.

Particularités individuelles. — Dans le cas d'infection primaire (n° 72) soumis à un traitement mixte *d'atébrine et plasmoquine*, la fièvre est disparue après 2 doses de médicament (3e jour de traitement), tandis que les gamétocytes n'ont persisté que 2 jours. Les phénomènes de cyanose dus à la plasmoquine sont apparus

FIEV

	Nombre des cas traités	Fièvre — Nombre des cas où la fièvre a disparu après doses:									Schizontes — Nombre des cas où les schizontes ont disparu après doses:								Nombre ont disp	
		pas de fièvre	0	1	2	3	4	5	6	7	0	1	2	3	4	5	6	7	0	1
Atebrin 0.30×7 j.	16	—	1	1	6	6	1	1	—	—	—	—	4	10	1	1	—	—	—	—
Quinine 1 gr× 7 j.	7	—	—	1	5	1	—	—	—	—	1	—	2	2	1	1	—	—	—	1
Atebrin 0.30+quinine 0.50×7 j.	5	1×	1	1	1	—	—	1	—	—	—	—	2	—	2	1	—	—	—	—
Atebrin 0.30+plasmoquine 0.02×7 j.	11	—	—	3	3	4	1	—	—	—	—	4	5	1	1	—	—	—	—	—
Quinine 0.50+plasmoquine 0.02×7 j.	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—

N° 1.

TIERC

	Nombre des cas traités	Fièvre — Nombre des cas où la fièvre a disparu après doses:									Trophozoïtes — Nombre des cas où les trophozoïtes ont disparu après doses:								Nombre disparu	
		0	1	2	3	4	5	6	7	pas de trophozoïtes	0	1*	2	3	4	5	6	7	pas de game tocytes	0
Atebrin 0.30×7 j.	25	3	7	10	5	—	—	—	—	—	1	2	10	1	3	1	1	—	2	3
Quinine 1 gr× 7 j.	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Atebrin 0.30+quinine 0.50×7 j.	5	2	—	2	1	—	—	—	—	—	1	—	2	1	1	1	—	—	—	—
Atebrin 0.30+plasmoquine 0.02×7 j.	14	5	3	3	1	1	1	—	—	2×	1	3	2	1	2	2	—	1	7	1

N° 2.

TIERC

	Nombre des cas pris en considération	Fièvre — Nombre des cas où la fièvre a disparu après doses:									Schizontes — Nombre des cas où les schizontes ont disparu après doses								Nombre disparu	
		pas de fièvre	0	1	2	3	4	5	6	7	pas de schiz.	0	1	2	3	4	5	6	7	pas de game tocytes	0
Atebrin 0.30×7 j.	7	—	1	4	1	1	—	—	—	—	—	—	5	2	—	—	—	—	—	—	—
Quinine 1 gr× 7 j.	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
Atebrin 0.30+quinine 0.50×7 j.	8	1×	1	2	3	1	—	—	—	—	—	—	4	3	1	—	—	—	—	—	—
Atebrin 0.30+plasmoquine 0.02×7 j	9	—	—	6	3	—	—	—	—	—	—	1	5	2	—	1	—	—	—	—	—

N° 3.

UARTE

tes gamétocytes oses:				Persistence des gamétocytes après le 7e jour de traitement	Rate		Coloration jaune de la peau après doses:								Persistance après le 15e jour		Réexaminés	Rechute	Observations
5	6	7		diminue après traitement	non diminué	1	2	3	4	5	6	7	8	pigmentation jaune des téguments	Cyanose			
4	3	1	1	14	2	1	2	5	2	2	2	—	1	14	—	8	3	
3	—	1	1	5	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2	
1	1	—	2	5	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	2	—	Malgré l'apyrexie le cas présentait des schizontes
3	4	—	—	7	4	—	—	—	—	2	—	3	—	1	2 cf	7	1	
—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	

LIGNE

es gamétocytes ont				Persistence des gamétocytes après le 7e jour de traitement	Rate		Coloration jaune de la peau après doses:								Persistance après le 15e jour		Réexaminés	Rechutes	Observations
4	5	6	7		diminue après traitement	non diminué	1	2	3	4	5	6	7	8	pigmentation jaune des téguments	Cyanose			
1	1	—	3	14	15	10	1	6	6	2	4	2	2	—	13	—	20	7	
—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	Rate non pércutable 1+
—	1	—	—	4	2	2	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	3	—	" " " 1+
—	1	1	—	2	7	7	—	—	2	1	2	—	—	—	5	1(c)	9	3	(c) La cyanose s'est revelé dans un cas parmi les 2 qui n'ont pas présenté du tout des gamétocytes × Les deux cas qui n'ont pas eu des trophozoïtes ont présenté quand même des accès

IIGNE

tes gamétocytes ont				Persis-tence des gamétocytes après le 7e jour de traitement	Rate		Coloration jaune de la peau après doses:								Persistance après le 15e jour		Réexaminés	Rechutes	Observations
4	5	6	7		diminue après traitement	non diminué	1	2	3	4	5	6	7	8	pigmentation jaune des téguments	Cyanose			
—	—	—	—	—	7	—	—	1	1	2	—	—	—	—	2	—	5	—	
—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	
2	—	1	—	—	6	2	—	—	—	2	—	—	—	—	1	—	7	—	Malgré l'apyrexie le cas présentait des schizontes
2	—	—	—	—	9	—	—	1	—	2	—	—	—	2	1	—	4	—	

dès le 2e jour, sont devenus intenses le 7e et se sont maintenus plus de 4 jours après avoir cessé le traitement. Ces phénomènes ont été accompagnés d'hypotension artérielle et d'arythmie. La coloration jaune de la peau provoquée par l'atébrine n'est apparue que le 7e jour de traitement et persistait encore le jour de son départ (4 jours plus tard).

Parmi les 20 cas de triple quarte (accès quotidiens) traités avec atébrine, dans 7 cas le médicament n'a pas empêché les accès au cours des 2 jours suivant le premier jour de traitement; dans ces mêmes cas les parasites persistent plus longtemps dans le sang, la coloration jaune de la peau étant également intense (malade Ch..., n° 48).

Dans un cas (Nichita Babara, n° 49), il y a eu *reprise des accès le 6e jour du traitement, qui n'a duré d'ailleurs qu'un seul jour.*

En 3 cas de triple quarte (nos 62, 63, 67) traités avec de la quinine, on observe un déplacement de l'accès le premier jour du traitement, sans que l'effet de la quinine se fasse ressentir sur l'accès du lendemain, et dans un cas sur l'accès du 3e jour. L'action de la quinine sur les schizontes s'exerce en général après les premières doses. Dans 2 cas, l'action sur les gamétocytes a été très lente (nos 63, 65).

Dans 4 cas de quarte simple traités avec atébrine, l'administration du médicament pendant la période afébrile n'empêche pas l'apparition de l'accès suivant (24 à 48 heures plus tard) qui conserve d'ailleurs aussi son intensité (voir malade n° 50, Obada). Dans un autre cas, l'administration du médicament à 8 heures du matin ne déplace pas l'abcès qui a lieu comme les jours précédents à 2 heures de l'après-midi. Dans tous ces cas, la coloration de la peau était moins intense que dans les cas de triple quarte.

Les cas de quarte moins sévères et dont la température ne dépassait pas 38°, bénéficiant de leur immunité acquise au cours du traitement par atébrine, la disparition de la fièvre et des parasites est de beaucoup plus rapide.

La fréquence des cas de cyanose et de troubles du rythme cardiaque dans les cas traités avec atébrine + plasmoquine recommande une surveillance particulière.

Le pourcentage des cas avec réduction de la rate après 7 jours de traitement comporte des chiffres trop variables pour être comparés.

Parmi les cas traités avec atébrine seule ou combinée, l'intensité de la coloration de la peau était plus accentuée dans les cas

à forme classique plus sévère. En plus de 50 % des cas, cette coloration persistait plus de 15 jours après le début du traitement.

Rechutes : *21* sur les 40 malades traités ont été revus (détails inscrits dans le tableau n° 1) ; 6 rechutes cliniques ou parasitaires : 3 sur 8 malades traités à l'atébrine; 2 sur 3 traités avec de la quinine; 1 sur 7 traités avec atébrine + plasmoquine.

TIERCE MALIGNE

Parmi les 45 cas de tierce maligne traités, 9 présentaient des accès de première invasion. Deux de ces cas étaient certainement dus à une infection d'hiver à l'intérieur de l'habitation; 12 de nos malades présentaient des rechutes à accès quotidiens très intenses; 9 des accès de tierce; dans les 15 autres cas (des formes légères et sous-fébriles), la température ne dépassait pas *38°*.

Dans 3 cas d'infection primaire, l'action de l'atébrine a été lente et n'a pas empêché dans un cas l'apparition des accès au cours même du traitement (n° 5). Dans tous ces cas, la coloration de la peau a été très intense.

Fièvre. — L'action sur la fièvre après les 2 jours de traitement est plus constante que dans la fièvre quarte. Dans 5 sur 25 cas traités à l'atébrine, la fièvre n'a disparu qu'après les 3 premiers jours de traitement.

Dans un cas (n° 5) avec mauvais état général (lésions médullaires et eschares), nous assistons à une *reprise des accès au cours même du traitement avec l'atébrine.* La fièvre a duré 3 jours.

Action sur les trophozoïtes. — Les données de notre tableau montrent *qu'un traitement de 5 jours avec atébrine seule ou combinée paraît insuffisant dans la tierce maligne.* Les trophozoïtes persistent dans la circulation dans un nombre réduit de cas après cet intervalle.

Action sur les gamétocytes. — La durée d'observation de nos malades est trop courte pour juger de l'action sur les gamétocytes; dans 7 sur 11 cas qui ne présentaient pas de gamétocytes le jour du début du traitement, les croissants ont apparu au cours du traitement ; dans les 4 autres cas, les gamétocytes ont été absents au cours de cette période d'observation.

Le mélange atébrine-plasmoquine. — Les 14 cas traités avec le mélange : atébrine 0,30 ctgr. + 0,02 ctgr. × 7, ne font pas res-

sortir l'avantage de cette médication mixte sur l'atébrine seule

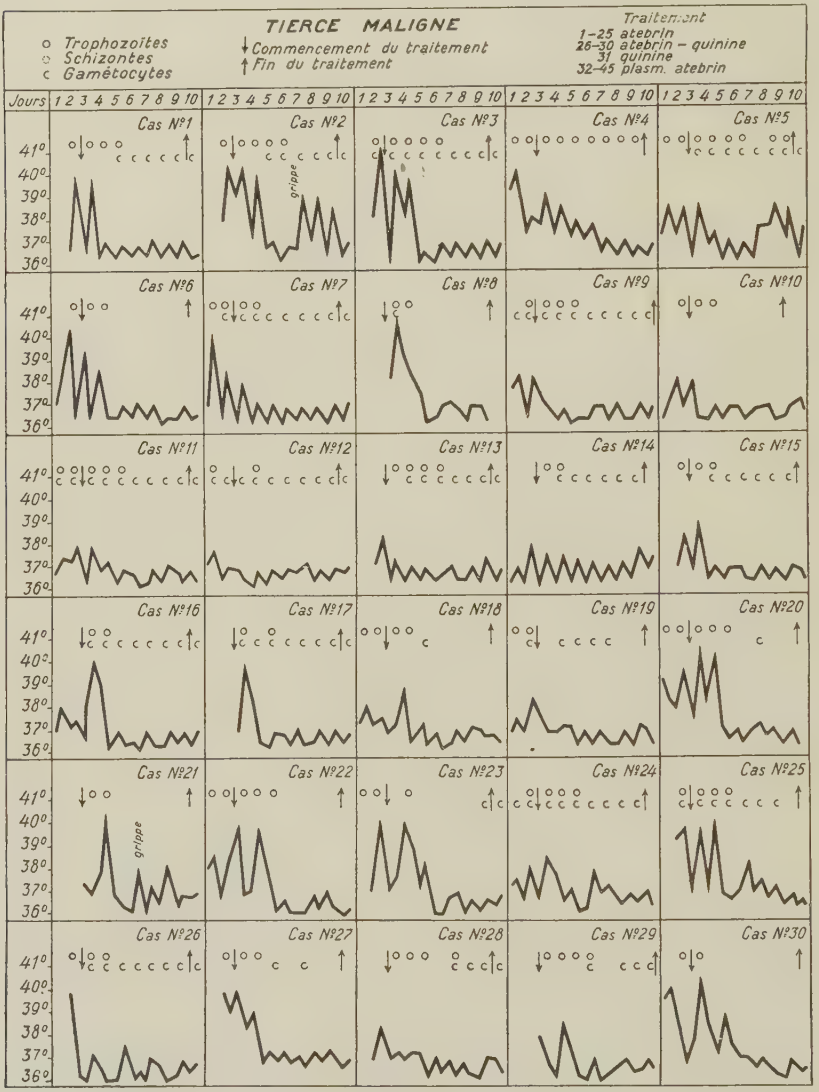


Fig. 2.

utilisée dans les mêmes doses, au point de vue de l'action sur la fièvre et les trophozoïtes. Ce mélange manifestement plus toxique a, par contre, fait disparaître les gamétocytes dans 5 cas et a

empêché leur apparition dans les 7 cas qui ne présentaient pas de gamétocytes le premier jour du traitement.

Le mélange (atébrine 0,30 + quinine 0,50) × 7 ne paraît pas avoir un effet thérapeutique meilleur qu'une même dose d'atébrine sans quinine.

Rechutes : *33* sur 45 malades atteints de tierce maligne ont été revus. Le pourcentage des rechutes parmi les malades traités avec atébrine ou atébrine + plasmoquine est approximativement le même.

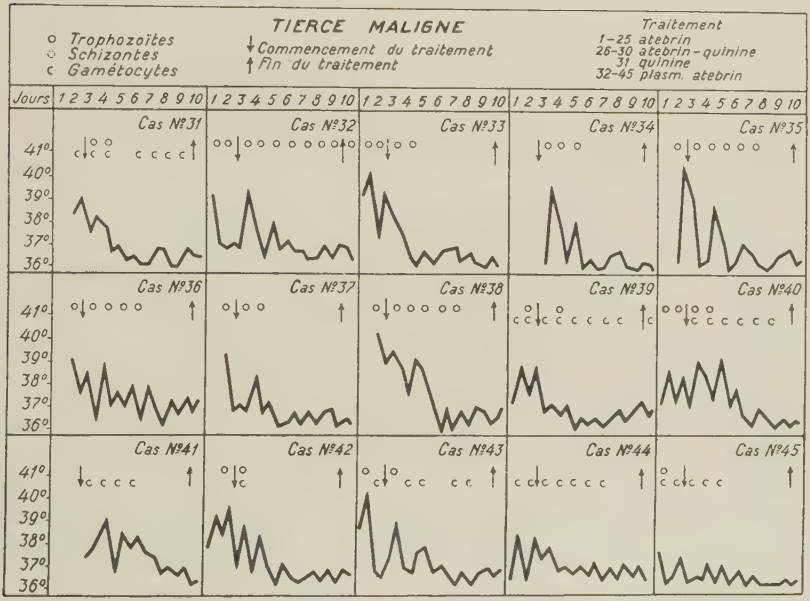


FIG. 2 *bis*.

TIERCE BÉNIGNE

Les 25 cas traités étaient des rechutes. Dans un cas avec accès quotidien, la première dose d'atébrine n'empêche pas l'accès du jour suivant. Chez les autres malades, la fièvre et les parasites ont disparu en général après les 2 premiers jours de traitement; la rate a également diminué, à la fin du traitement, dans 23 sur 25 cas traités. La coloration jaune de la peau, dans

la plupart des cas, a commencé après le 4e jour de traitement et a persisté jusqu'au départ des malades.

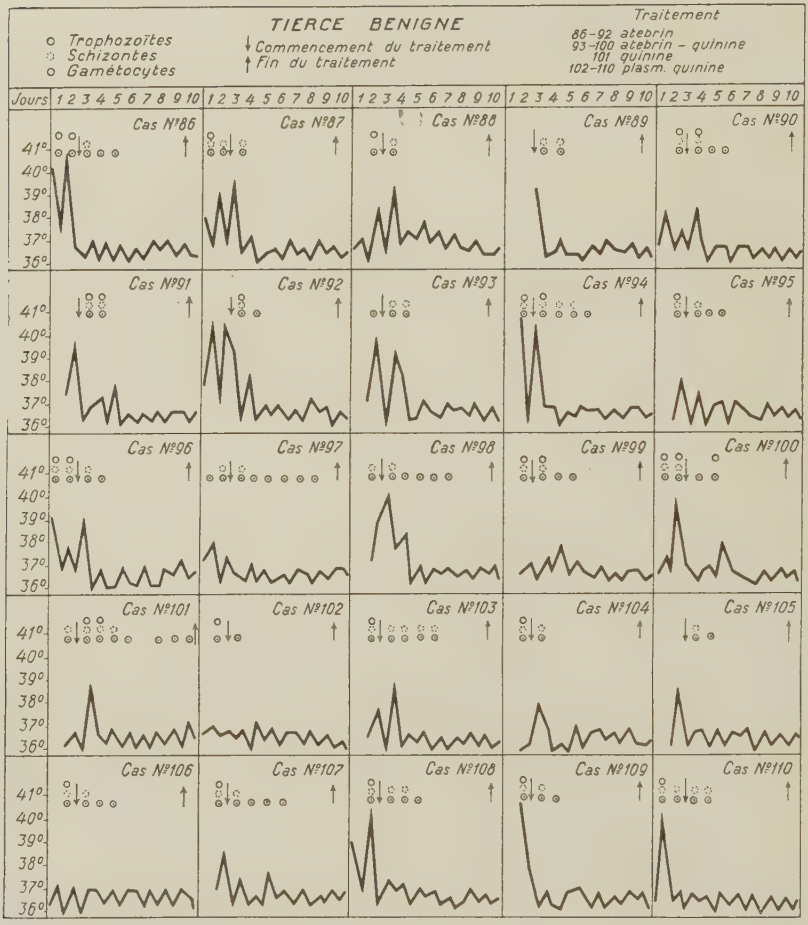


FIG. 3.

Un cas traité avec de la quinine s'est comporté sensiblement de la même manière.

Une seule rechute sur 17 malades revus; ce cas avait reçu un traitement avec la quinine.

CONCLUSIONS

Nos observations confirment les données antérieures sur l'efficacité de l'atébrine dans les cas d'infection naturelle due à l'un des 3 types de parasites et son innocuité dans la période aiguë de la maladie.

Au point de vue de l'action directe sur la fièvre et le délai de la disparition des schizontes, il est difficile d'établir une différence d'efficacité entre la quinine et l'atébrine.

Le degré d'efficacité de ce produit (action directe sur la fièvre et la disparition des parasites) est en relation également (comme pour la quinine d'ailleurs) avec la période de la maladie, donc avec le degré d'immunité acquise du malade.

L'intensité de coloration de la peau, qui constitue un inconvénient de cette substance, paraît dans nos cas plus accentuée dans les cas graves.

L'association de l'atébrine (0,30) avec une dose sous-toxique de plasmoquine (0,02) déclanche, dans un nombre de cas, les phénomènes toxiques de la plasmoquine dès le second jour du traitement. Nous ne conseillons pas ce mélange dans le traitement des formes aiguës de la maladie, que *sous stricte observation d'un médecin.*

L'association de l'atébrine (0,30) avec 0,50 de quinine ne nous paraît pas avoir des avantages particuliers sur chacune de ces deux substances utilisées isolément. Parmi les troubles secondaires dus à l'atébrine, nous signalons dans certains cas des troubles gastro-intestinaux, vomissements, gastralgies (cas n^{os} 4, 5, 10, 15, 43 et 61); dans un seul cas, nous avons remarqué une légère excitation cérébrale chez une malade enceinte de 4 mois.

Malgré le nombre réduit de malades, on peut constater qu'au point de vue de la prévention des rechutes dans la tierce maligne, le mélange d'atébrine et de plasmoquine ne paraît pas avoir des avantages sur l'atébrine dans le tiers des cas qui ont présenté des rechutes. L'action du mélange paraît plus nette dans les cas de fièvre quarte.

Nous remercions la maison Bayer qui a mis à notre disposition gratuitement, par ses représentants en Roumanie, la quantité d'atébrine nécessaire à ces recherches.

SUR LES ALTÉRATIONS DES ORGANES INTERNES DANS LES BRULURES [1]

(Etude expérimentale)

par

C. BONCIU et N.-N. CONSTANTINESCO

(Travail de l'Institut de Sérologie « Docteur J. Cantacuzène » et de l'Institut médico-légal de Bucarest)

Les altérations des organes internes en cas de brûlures ont toujours préoccupé ceux qui ont cherché l'explication de la mort qui survient dans les brûlures étendues. Mais la majorité n'a fait que des études non systématiques et unilatérales, se contentant d'étudier souvent un seul organe dont les lésions semblaient suffisantes pour expliquer la mort. Ce sont spécialement les lésions des glandes surrénales qui ont été étudiées avec insistance, car chez les grands brûlés, certains symptômes rappelaient les troubles dus aux lésions de ces glandes. En même temps on négligeait complètement les lésions des autres organes.

Ayant eu l'occasion d'autopsier un grand nombre de morts par brûlures, nous avons été frappés par le manque complet des lésions ou bien par des lésions insignifiantes des glandes surrénales.

Ceci nous a déterminé d'entreprendre une étude systématique des brûlures chez les animaux, afin de nous rendre compte d'une manière plus exacte des lésions organiques qui provoquent la mort.

Il eût été assez difficile d'apprécier chez l'homme, surtout les lésions dégénératives de certains organes, car on ne peut pas toujours pratiquer l'autopsie immédiatement après la mort, et il suffit de quelques heures pour avoir des altérations cadavériques qui peuvent nous tromper.

Avant d'exposer le résultat de nos recherches, nous relatons

(1) Travail reçu le 1er décembre 1934.

sommairement les résultats de nos prédécesseurs dans ce domaine, tant chez l'homme qu'expérimentalement chez les animaux.

Pour faciliter l'exposition de ces résultats, nous les avons groupés par organes.

Les glandes surrénales. — L'étude des lésions rencontrées sur le cadavre a été le point de départ de grandes controverses, certains auteurs décrivant des lésions capitales, d'autres ne rencontrant que des altérations minimes.

Les altérations cadavériques des glandes surrénales surviennent immédiatement après la mort se traduisant par la nécrose, la transformation des lipoïdes, la disparition de la substance chromaffine, congestion et petites hémorragies (par hypostase). Par conséquent, si l'on pratique l'autopsie même quelques heures après la mort, il faut être très prudent dans l'interprétation des résultats.

Churton (1896) et Arnaud (1900) ont relaté chacun un seul cas, avec des foyers hémorragiques au niveau des surrénales.

Napp, Albrecht, Weltman, ont trouvé dans un cas la disparition des lipoïdes.

Kolisko (1913) trouve une augmentation de volume des surrénales qui sont fortement hyperémiées et présentent des petits foyers hémorragiques, disparition des lipoïdes et des mitoses dans la corticale.

Lattes (1916) décrit, dans les morts tardives par brûlures, deux sortes de phénomènes *a)* d'hypoactivité avec disparition des lipoïdes et de la substance chromaffine, et *b)* d'activité, avec karyokinèses dans la corticale.

Nakata, Niemeyer (1922), décrivent une hyperémie, des hémorragies, disparition des lipoïdes et de la substance chromaffine, hyperplasie de la corticale.

Pfeiffer, au contraire, trouve que les surrénales sont diminuées de volume chez les brûlés. Il ne trouve que des hémorragies insignifiantes. La substance chromaffine et les lipoïdes sont réduits, mais ils peuvent se refaire après un certain temps.

Pick, dans 25 cas autopsiés, ne trouve ni augmentation ni hémorragie au niveau des surrénales.

Pour Aschoff, les lésions des glandes surrénales sont insignifiantes et ne peuvent expliquer la mort.

Olberycht (1924) décrit lui aussi la disparition de la substance chromaffine et des lipoïdes, hyperémie, foyers nécrotiques, infiltration de polynucléaires, hémorragies dans la corticale.

M. Kernbach, dé Cluj, décrit deux cas avec des hémorragies.

Les études expérimentales ont contribué aux résultats suivants :

A. Moschini (1904) trouve chez le cobaye la dilatation des vaisseaux, des hémorragies, nécroses et phénomènes d'hyperplasie dans la corticale.

Nakata (1918), en échaudant chez le cobaye le train postérieur, obtient des brûlures dont il étudie les désordres organiques à des intervalles variant entre 15 minutes et 16 jours. Il trouve des hémorragies, une hyperémie, des foyers nécrotiques et l'hyperplasie de la corticale.

Pfeiffer (1920), toujours chez le cobaye, obtient de petites hémorragies, la diminution de la substance chromaffine et des lipoïdes.

Olberycht (1924), chez le chien et le lapin, échaudés à l'eau bouillante, trouve l'augmentation de volume des surrénales, qui sont hyperémiées, hémorragiques et présentent la réduction des lipoïdes et de la substance chromaffine.

Le tube digestif. — Curling (1842) décrit chez l'homme des hémorragies au niveau de la muqueuse stomacale et duodénale.

Dupuytren trouve aussi des ulcérations de la muqueuse de l'estomac et de l'intestin.

Darchis relate un cas de perforation stomacale, survenant 17 jours après la brûlure.

Long, Erichson, Curling, trouvent des ulcérations duodénales.

Aschoff décrit des hémorragies, des érosions et des ulcérations de la muqueuse stomacale chez l'adulte, et du duodénum chez l'enfant.

Pfeiffer trouve que les entérites, les hémorragies et les ulcérations stomacales sont fréquentes chez les herbivores, tandis que chez les carnivores et chez l'homme, elles sont assez rares.

Lubarsch trouve aussi des érosions, des ulcérations et des hémorragies de la muqueuse stomacale et duodénale, produites par embolie et thrombose.

Holmes et Lanne parlent aussi d'ulcérations du jéjunum et de l'iléon.

M. Minovici trouve aussi, dans un cas, un ulcère duodénal chez l'enfant.

Olberycht ne rencontre jamais des ulcérations au niveau du tube digestif.

Comme recherches expérimentales dans cette direction, nous trouvons :

Welti, chez les lapins échaudés selon le procédé de Klebs (immersion des oreilles dans l'eau à 50°-60°), obtient des hémorragies et des ulcérations de la muqeuse stomacale.

Schegerming, Silberman, Mendel, obtiennent des ulcérations duodénales chez le lapin.

Busse et Waelle trouvent, chez les lapins échaudés sur le dos et tués 4 jours après, des hémorragies et des érosions au niveau de la muqueuse stomacale, du duodénum et du jéjunum.

Stockvis, Lang, Sokoloff, Firmissen, toujours chez le lapin, obtiennent des ulcérations stomacales.

Wassale et Sacchi provoquent des hémorragies de la muqueuse duodénale en injectant dans la circulation des extraits de tissus brûlés.

Les mêmes résultats ont été obtenus par Parascandolo, Welti et Scavioli, avec des extraits d'organes ou avec le sang d'un animal brûlé.

Les lésions de la rate. — Mc Callum, chez l'homme, remarque le grand volume des follicules et l'hyperplasie des centres germinatifs.

Marchand ne trouve aucune lésion.

Aschoff trouve une grande rate dure et qui présente à la section une coloration brune foncée. Au microscope, il remarque certains petits corpuscules, des bâtonnets et des éléments tétraédriques avec les réactions de l'hémoglobine. Il trouve aussi des cellules phagocytaires contenant des globules rouges, parfois des cristaux de Charcot, infiltration par les polynucléaires et rarement transformation myéloïde de la pulpe.

G. Lubarsch décrit, surtout chez l'enfant, des altérations des follicules. Après 29 ans, ces altérations manquent. Il remarque encore des hémorragies de la pulpe, hémosidérose, des thrombus de plaquettes hyalinisées dans les sinus. Chez l'enfant, l'hémosidérose est absente. Il décrit encore un cas avec des foyers nécrotiques au niveau des follicules, et encore un autre où les foyers nécrotiques intéressaient la pulpe.

Nakata observe une hyperémie avec de grands follicules. Le réticule est hyalinisé et dans la pulpe on trouve de grandes cellules avec noyau vésiculeux, des éosinophiles, des mononucléaires et des hémorragies.

Par expérimentation, on a obtenu :

A. Moschini et Nakata, sur le cobaye, des hémorragies importantes dans la pulpe, surtout dans le voisinage des follicules.

Kotzareff, en inoculant du sérum humain ou bien le sérum des animaux brûlés, observe des hyperémies, des hémorragies, des grands follicules et des globules rouges détruits.

Les lésions des reins. — Lubarsch et Aschoff ont trouvé chez l'homme, à la suite des brûlures, des néphroses et des néphrites hémoglobinuriques.

Pfeiffer obtient, chez le lapin, une forte dilatation des vaisseaux, la dégénérescence albumineuse et graisseuse du parenchyme, des cylindres hématiques ou hémoglobinuriques.

Les lésions du cœur. — Olberycht trouve chez l'homme la dégénérescenc parenchymateuse du myocarde.

Aschoff remarque des hémorragies dans le péricarde.

Pfeiffer, Aschoff, Salvioli, Welti, observent, toujours chez l'homme, une forte dilatation des vaisseaux splanchniques, des thromboses et des embolies dans les petits vaisseaux, les capillaires et les lymphatiques.

Wertheim, Ponfick, Klebs, obtiennent des lésions vasculaires chez les animaux en inoculant des extraits de tissus brûlés.

RECHERCHES PERSONNELLES

La majorité des auteurs qui ont étudié l'anatomie pathologique des brûlures par voie expérimentale ont employé, comme agent producteur, l'eau bouillante. Considérant que les cas les plus fréquents sont provoqués par la flamme, nous avons utilisé dans nos recherches la flamme d'une soufflerie à gaz. Par ce procédé, nous avions la possibilité de provoquer des lésions localisées, d'une surface plus ou moins fixe, et en plus, le temps d'exposition était sous notre contrôle.

Comme animaux d'expérience, nous avons utilisé des cobayes de différents poids (204-910 grammes). Après leur avoir rasé la région dorso-lombaire, on l'exposait à la flamme de la forge.

Ayant remarqué que les animaux ne supportaient pas une exposition trop prolongée, nous ne les avons exposés à la flamme que très peu (1/2-2 minutes), mais nous avons répété l'opération, selon les possibilités, tous les 2 jours.

Les animaux ont survécu de 15 minutes à 16 jours. L'autopsie était pratiquée immédiatement après la mort. On prélevait des

fragments de chaque organe que nous traitions de la manière suivante :

Premier lot : fixation au formol à 10 %, inclusion à la paraffine, coloration à l'hématéine-éosine.

Deuxième lot : fixation au formol, coupes après congélation, coloration au Scharlach.

Troisième lot : fixation au Müller-formol, inclusion à la paraffine, coloration de May-Grünwald-Giemsa pour la substance chromaffine.

Quatrième lot : fixation au formol, inclusion à la paraffine, coloration au ferricyanure de K, acide chlorhydrique, pour les pigments ferriques.

L'étude du système nerveux central manque, car ce chapitre fera l'objet d'une autre publication, étant donné les techniques spéciales que le système nerveux comporte.

Nous avons utilisé pour nos expériences 30 cobayes, répartis de la façon suivante :

1° 5 cobayes, avec des brûlures partielles de 1er degré;
2° 4 cobayes, avec des brûlures généralisées de 1er degré;
3° 7 cobayes, brûlures partielles de 2e degré;
4° 5 — — généralisées »
5° 5 — — partielles de 3e degré ;
6° 1 — — généralisées »
7° 1 cobaye, dont nous avions carbonisé le train postérieur;
8° 1 cobaye tué par ponction du bulbe et brûlé jusqu'à l'apparition de phlyctènes;
9° 1 cobaye tué par le même procédé et servant comme témoin.

Parmi les animaux avec des brûlures du 1er degré, quelques phlyctènes se sont produites malgré nous. Ceci est consigné dans le protocole respectif. Nous avons consigné aussi l'état des lésions de la peau au moment de la nécropsie, car à la suite des brûlures répétées, des animaux, ayant eu au début des lésions de 1er ou de 2e degré, présentaient vers la fin des lésions plus avancées.

Voici, aussi résumés autant que possible, ces protocoles d'expériences et l'aspect anatomo-pathologique des lésions.

I. — BRULURES DE 1er DEGRÉ (ÉRYTHÈME)

COBAYE 2 *(230 grammes)*. — Ayant des brûlures de 1er degré dans la région dorso-lombaire, sur une surface de 5/8 centimètres. Nous l'avons exposé 5 fois, 1-2 minutes. Pendant la 3e et la 5e exposition, il a eu des phlyctènes. Il a survécu 16 jours. Il pesait à la fin de l'expérience 202 grammes.

A l'autopsie :
Congestion des bases des poumons.
La muqueuse de l'estomac hyperémiée, surtout au voisinage du pylore.
Reins : légèrement grossis, congestion avec des petits points hémorragiques dans la corticale.
Glandes surrénales : d'une coloration brunâtre, congestionnées.
Congestion des autres organes.
La peau présente des lésions de 1er-2e-3e degré.

A l'examen microscopique, nous avons constaté :
Poumons : hyperémie, des petites hémorragies, exsudat albumineux et des cellules endothéliales dans les alvéoles. Infiltration à mononucléaires et polynucléaires.
Cœur : hyperémie, petites hémorragies. La fibre cardiaque présente des lésions de hyperplasmie, dégénérescence granulo-graisseuse très fine, par zones.
Le foie : hyperémié, de petites hémorragies, dégénérescence graisseuse prononcée.
La rate : hyperémie, petites hémorragies, des macrophages avec du pigment sanguin (hémotoïdine et hémosidérine) en grande quantité. Les follicules sont hypertrophiés.
Les reins : forte hyperémie, des hémorragies interstitielles, dégénérescence albumineuse des tubes (intumescence aiguë, dégénérescence granulaire et vacuolaire), dégénérescence granulo-graisseuse fine et diffuse des zones nécrotiques. Dans la lumière des tubes, dont l'épithélium est détruit, il y a un exsudat albumineux.
Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
Estomac : des petites hémorragies dans la muqueuse.

COBAYE 8 *(467 grammes)*. — Brûlures de 1er degré, surface de 6/10 centimètres. 5 expositions de 1/2-1 minute. Il survit 12 jours. Poids final, 395 grammes.

A l'autopsie :
Les poumons sont congestionnés et présentent des zones hémorragiques de la grandeur d'une lentille.
Les reins : tuméfiés, congestion.
Glandes surrénales : légèrement hypertrophiées, congestion.
L'intestin : la muqueuse est congestionnée. Au voisinage du cæcum, on trouve une petite ulcération hémorragique.

A l'examen microscopique nous avons trouvé :
Les poumons : hyperémiés avec foyers hémorragiques, exsudat albumineux dans les alvéoles. Desquamation des cellules de l'endothélium alvéolaire et infiltration avec mononucléaires. Dans les petites bronchioles, on trouve des globules rouges.

La rate : forte hyperémie, hémorragies, les follicules sont hypertrophiés. Infiltration de macrophages contenant du pigment sanguin.

Le cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie.

Le foie : hyperémie, petites hémorragies, dégénérescence graisseuse autour des veines centro-lombaires.

Glandes surrénales : hyperémiées. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

Les reins : hyperémie, hémorragies. Les glomérules sont hypertrophiés et présentent des hémorragies au niveau de la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives prononcées des zones nécrotiques. Au niveau de l'épithélium tubulaire, il y a une dégénérescence granulo-graisseuse diffuse. La lumière est occupée par des globules rouges, des cellules détruites et un exsudat albumineux.

L'ulcération du gros intestin occupe la muqueuse et les tuniques jusqu'à la musculaire qui est infiltrée par des globules rouges.

Pancréas : petites hémorragies interstitielles.

Cobaye 10 *(610 grammes)*. — Brûlures de 1er degré. Surface de 6/10 centimètres. 6 expositions de 1/2-minute. A la 3e et à la 5e exposition, des vésicules apparaissent. Survit 14 jours. Poids final, 439 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : congestion de la corticale, la substance médullaire est pâle.

Glandes surrénales : légèrement hypertrophiées, la corticale est congestionnée.

Tous les organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 1er-3e degré.

A l'examen microscopique, nous trouvons :

Poumons : hyperémie, petites hémorragies.

Foie : phénomènes dégénératifs. Dégénérescence graisseuse très prononcée autour des veines centro-lobulaires.

Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.

La rate : hypertrophie des follicules, hyperémie, des macrophages contenant du pigment sanguin.

Le cœur : hyperémie, hyperplasmie, dégénérescence granulo-graisseuse fine par placards.

Les reins : hyperémie, petites hémorragies, lésions dégénératives et dégénérescence granulo-graisseuse très fine par placards.

Cobaye 12 *(425 grammes)*. — Brûlures de 1er degré. Surface de 10/6 centimètres. 5 expositions de 1/2-1 minute. Pendant la 2e exposition, des vésicules apparaissent. Survit 11 jours. Poids final, 317 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : légèrement hypertrophiés. La corticale est très congestionnée et présente des points hémorragiques.

Surrénales : congestion de la corticale.

Estomac : congestion, une petite zone hémorragique.

Tous les autres organes sont congestionnés.

La peau présente des lésions de 1er-3e degré.

On trouve à l'examen microscopique :

Les poumons : hyperémie, petites hémorragies. Dans les alvéoles, il y a un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.

Glandes surrénales : hyperémie, petites hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservées.

Le foie : hyperémie, petites hémorragies, légère dégénérescence graisseuse.

Cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie. Dégénérescence graisseuse fine et diffuse. Légère infiltration par des mononucléaires.

Les reins : hyperémie, des hémorragies interstitielles et au niveau de la membrane de Bowmann. Lésions dégénératives du parenchyme et légère dégénérescence granulo-graisseuse diffuse. Dans la lumière des tubes, on voit un exsudat hémorragique contenant des cellules épithéliales nécrosées.

La rate : hyperémie, petites hémorragies. Les follicules sont hypertrophiés.

Estomac : hémorragies dans la muqueuse.

COBAYE 24 *(897 grammes)*. — Brûlures de 1er degré. Surface de 5/6 centimètres. 4 expositions de 1/2-1 minute. Pendant la 4e séance, apparaissent des vésicules. Survit 7 jours. Poids final, 710 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les poumons sont congestionnés.

Les reins : congestion, hémorragies punctiformes dans la corticale.

Surrénales : congestion, un foyer hémorragique dans la corticale.

Tous les autres organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 1er-3e degré.

On trouve à l'examen microscopique :

Le poumon est le siège d'une très forte hyperémie, petites hémorragies. Dans les alvéoles, on observe des cellules endothéliales et des polynucléaires.

La rate : forte hyperémie, hémorragies, les follicules sont hypertrophiés. Infiltration avec des macrophages contenant du pigment sanguin.

Surrénales : hyperémie, des foyers hémorragiques et nécrotiques. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.

Cœur : hyperémie, légère hyperplasmie. Légère dégénérescence granulo-graisseuse par foyers.

Foie : hyperémie, forte dégénérescence graisseuse.

Les reins : hyperémie, hémorragies, lésions dégénératives et nécrotiques. Dégénérescence granulo-graisseuse très prononcée. Dans la lumière des tubes, on observe un exsudat albumineux englobant des cellules épithéliales nécrosées.

COBAYE 17 *(684 grammes)*. — Brûlure généralisée de 1er degré ayant duré 1 minute. Survit 2 jours. Poids final, 670 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : légèrement hypertrophiés. Congestion.

Estomac : deux foyers hémorragiques sur la grande courbure.

Tous les organes sont congestionnés.

On trouve à l'examen microscopique :

Les poumons : hyperémie, hémorragies. Dans les alvéoles, il y a un exsudat fibrino-albumineux contenant des polynucléaires, des mononucléaires et des cellules endothéliales.

Les surrénales sont hyperémiées; hémorragies, les lipoïdes et la substance chromaffine sont diminués.

Les reins : hyperémie, hémorragies. Des lésions de dégénérescence granulo-graisseuse très fine et de nécrose. Dans la lumière des tubes, il y a un exsudat hémorragique et des cellules détruites.
La rate : hyperémie, les follicules sont hypertrophiés, des macrophages avec pigment sanguin.
Le cœur : hyperémie, hyperplasmie, dégénérescence granulo-graisseuse.
Le foie : hyperémie, légère dégénérescence graisseuse.
Estomac : des hémorragies dans la muqueuse et la sous-muqueuse.

Cobaye 19 *(665 grammes).* — Des brûlures généralisées de 1er degré. 4 expositions de 1/2-1 minute. Survit 7 jours. Poids final, 488 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Les reins : congestion avec des points hémorragiques dans la corticale.
Les poumons : fortement hyperémiés, ayant des foyers hémorragiques disséminés dans la totalité du parenchyme.
L'estomac : la muqueuse est congestionnée et présente des foyers hémorragiques.
Congestion dans tous les organes.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Les poumons: présentent des foyers hémorragiques et de l'hyperémie. Dans les alvéoles, il y a un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.
Glandes surrénales : hyperémie, petites hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
La rate : hyperémie, hémorragies dans la pulpe. Les follicules sont hypertrophiés. Fréquents macrophages contenant du pigment sanguin.
Le cœur : hyperémie. Lésions d'hyperplasmie. Des foyers de dégénérescence granulo-graisseuse et hémorragie.
Le foie : hyperémie, petites hémorragies. Dégénérescence graisseuse très prononcée autour des espaces de Kiernan.
Les reins : hyperémie, hémorragies. Lésions nécrotiques et dégénératives. Légère dégénérescence granulo-graisseuse par placards. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumineux ou hémorragique.
L'estomac : de petites hémorragies dans la muqueuse.

Cobaye 25 *(722 grammes).* — Brûlures généralisées de 1er degré. 3 séances de 1/2-1 minute. Survit 6 jours. Poids final, 660 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Glandes surrénales : légèrement hypertrophiées; congestion.
Les reins : congestion, des points hémorragiques dans la corticale.
Les poumons sont fortement congestionnés.
Les autres organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Les poumons : hyperémie, petites hémorragies. Dans les alvéoles, un exsudat albumino-fibrineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.
Le cœur : hyperémie, hyperplasmie, légère dégénérescence graisseuse par foyers.
La rate : hyperémie. Dans la pulpe, de nombreux macrophages contenant du pigment sanguin. Les follicules sont hypertrophiés, ayant leurs centres germinatifs hyperplasiés.

Le foie : foyers hémorragiques, hyperémie. Légère dégénérescence graisseuse.

Surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

Les reins : hyperémie. Hémorragies interstitielles et dans la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives et nécrotiques. Dans la lumière des tubes, un exsudat hémorragique contenant des cellules détruites.

COBAYE 26 *(837 grammes)*. — Brûlures généralisées de 1er degré. 4 séances de 1/2-1 1/2 minute. Survit 6 jours et meurt au cours de la dernière séance. Poids final, 680 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : très congestionnés, présentent des foyers hémorragiques dans la corticale.

Tous les autres organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :

Les reins : hyperémie, hémorragies, des lésions dégénératives et nécrotiques. Légère dégénérescence granulo-graisseuse. Dans la lumière des tubes, on trouve un exsudat albumineux et des épithéliums nécrosés.

Les poumons : hyperémie, exsudat albumineux contenant des endothéliums dans les alvéoles.

La rate : hyperémie, hyperplasie des follicules, nombreux macrophages contenant du pigment sanguin.

Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine en plus grande quantité qu'à l'état normal.

Cœur : hyperémie, légère hyperplasmie et dégénérescence granulo-graisseuse par foyers.

Le foie : hyperémie, petites hémorragies. Dégénérescence graisseuse très prononcée autour des espaces de Kiernan.

II. — BRULURES DE 2e DEGRÉ (PHLYCTÈNES)

COBAYE 3 *(345 grammes)*. — Brûlures de 2e degré sur une surface de 5/10 centimètres. 5 séances de 1-2 minutes. Survit 13 jours. Poids final, 275 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : légèrement hypertrophiés, hyperémie, des foyers hémorragiques dans la corticale.

Glandes surrénales : légère hypertrophie, congestion.

Les autres organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 2e-3e degré.

Nous trouvons à l'examen microscopique :

Les poumons : hyperémie, hémorragies. On observe des foyers où les alvéoles sont remplies par un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales, des mononucléaires et des polynucléaires.

Glandes surrénales : hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

La rate : hyperémie, des foyers hémorragiques. Les follicules sont hypertrophiés, ayant leur centre germinatif en hyperplasie. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

Le foie : hyperémie, petits foyers hémorragiques, légère dégénérescence graisseuse.

Cœur : hyperémie, légère hyperplasmie, dégénérescence granulo-graisseuse très fine.

Les reins : hyperémie, hémorragies. Lésions dégénératives. Dégénérescence granulo-graisseuse très fine. Dans la lumière des tubes, on trouve un exsudat albumineux contenant des cellules épithéliales nécrosées.

COBAYE 7 *(204 grammes)*. — Brûlures de 2e degré sur une surface de 6/10 centimètres. Une séance unique ayant duré 2 minutes. Survit 15 heures.

L'examen macroscopique montre :

Les poumons sont fortement congestionnés et présentent des foyers hémorragiques de la grosseur d'une lentille.

Les reins : congestion. Des foyers d'hémorragie dans la corticale.

L'estomac : la muqueuse est congestionnée et présente des foyers hémorragiques. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :

Les poumons : hyperémie, hémorragies. Dans les alvéoles, on trouve un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.

Glandes surrénales : hyperémie, foyers hémorragiques, des cellules nécrosées. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.

La rate : hyperémie, hémorragies, les follicules sont hypertrophiés. De rares macrophages contenant du pigment sanguin.

Le foie : hyperémie, hémorragies. Des lésions dégénératives. Forte dégénérescence graisseuse diffuse.

Cœur : hyperémie, hyperplasmie, des placards de dégénérescence graisseuse.

Les reins : hyperémie massive, hémorragies interstitielles et à l'intérieur de la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives et nécrotiques. Dégénérescence granulo-graisseuse intense.

Dans la lumière des tubes, on observe un exsudat hémorragique très abondant et des cellules épithéliales nécrosées.

L'estomac présente de petites hémorragies au niveau de la muqueuse.

COBAYE 9 *(394 grammes)*. — Brûlure de 2e degré. Surface de 5/4 centimètres. 3 séances de 1-2 minutes. Survit 7 jours. Poids final, 361 grammes.

L'examen mascroscopique montre :

Poumons : congestion, des foyers hémorragiques.

Les reins : légèrement hypertrophiés, congestion.

Glandes surrénales : congestion de la substance médullaire.

Tous les organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 2e-3e degré.

A l'examen microscopique, nous trouvons :

Poumons : hyperémie, hémorragies. Les alvéoles contiennent un exsudat albumineux qui englobe des cellules endothéliales et des mononucléaires.

Glandes surrénales : hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

La rate : hyperémie, de grandes hémorragies. Les follicules sont hypertrophiés. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

Cœur : hyperémie, de petites hémorragies, des zones d'hyperplasmie. Infiltration interstitielle avec des mononucléaires.

Les reins : hyperémie, hémorragies interstitielles et au niveau de la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives. Dans la lumière des tubes, on observe un exsudat hémorragique.

COBAYE 11 *(732 grammes)*. — Brûlures de 2e degré. Surface de 6/10 centimètres. 5 séances de 1-2 minutes. Survit 11 jours. Poids final, 477 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : congestion avec des foyers hémorragiques au niveau de la corticale.

L'estomac : la muqueuse est congestionnée et présente des placards hémorragiques. Tous les organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 2e et de 3e degré.

A l'examen microscopique, nous trouvons :

Les poumons : hyperémie, petites hémorragies interstitielles et au niveau des bronchioles.

Glandes surrénales : légère hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

Le foie : hyperémie. Dégénérescence graisseuse très forte autour des espaces de Kiernan.

Cœur : hyperémie, hyperplasmie et dégénérescence graisseuse par foyers.

Les reins : hyperémie très forte, des hémorragies interstitielles et au niveau de la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives et nécrotiques. Dégénérescence graisseuse fine et diffuse. Dans la lumière des tubes, on observe un exsudat albumino-hémorragique et des cellules nécrosées.

La rate : hyperémie, hémorragies. Les follicules sont hypertrophiés. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

L'estomac présente des hémorragies au niveau de la muqueuse.

COBAYE 13 *(390 grammes)*. — Brûlures de 2e degré. Surface de 8-4 centimètres. On fait 3 séances de 1/2 minute. Survit 5 jours. Poids final, 315 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les poumons : congestion et zones hémorragiques.

La muqueuse stomacale et celle de *la vessie urinaire* sont congestionnées et présentent des foyers hémorragiques.

Tous les autres organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 2e et de 3e degré.

A l'examen microscopique, nous trouvons :

Les poumons : hyperémie, hémorragies. Dans les alvéoles, il y a un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales.

Cœur : hyperémie, hyperplasmie. Dégénérescence granulo-graisseuse fine et diffuse. Légère infiltration interstitielle avec des mononucléaires.

Le foie : hyperémie, petites hémorragies. Légère dégénérescence granulo-graisseuse.

Glandes surrénales : hyperémie, hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.

La rate : hyperémie, les follicules sont hypertrophiés. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

Les reins : hyperémie, petites hémorragies interstitielles et à l'intérieur de la membrane de Bowmann. Quelques lésions dégénératives. Dégénéres-

cence granulo-graisseuse fine. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumineux.

L'estomac et la vessie urinaire présentent des hémorragies dans la muqueuse.

Cobaye 14 *(653 grammes)*. — Brûlures de 2e degré. Surface 10/8 centimètres. 4 séances de 1/2-1 minute. Survit 7 jours. Poids final, 413 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : légèrement hypertrophiés. La corticale est congestionnée. Même aspect des surrénales.

Estomac : la muqueuse est congestionnée et présente des foyers hémorragiques.

Le gros intestin présente, près du cæcum, une petite ulcération hémorragique.

Tous les organes sont congestionnés. La peau présente des lésions de 2e-3e degré.

Nous trouvons à l'examen microscopique :

Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

Le foie : hyperémie, légère dégénérescence graisseuse.

Cœur : hyperémie, hyperplasmie. Foyers de dégénérescence granulo-graisseuse. Légère infiltration interstitielle avec polynucléaires.

La rate : hyperémie, petites hémorragies. Des foyers contenant de la fibrine, des follicules hypertrophiés. Quelques macrophages avec du pigment sanguin.

Les reins : hyperémie, petites hémorragies. Des lésions de nécrose et de dégénération. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumineux contenant des cellules épithéliales nécrosées.

L'estomac et le gros intestin présentent des hémorragies dans la muqueuse.

Cobaye 15 *(432 grammes)*. — Brûlures de 2e degré. Surface de 8/10 centimètres. Une séance unique ayant duré 2 1/2 minutes. Survit 3/4 d'heure.

L'examen macroscopique montre :

Les reins : légèrement hypertrophiés, très congestionnés.

L'estomac et le gros intestin présentent une congestion très prononcée de la muqueuse avec des foyers hémorragiques.

Le pancréas est très congestionné. Congestion dans tous les organes.

A l'examen microscopique, nous trouvons :

Poumons : hyperémie. Dans les alvéoles un exsudat albumineux contenant des cellules épithéliales.

Glandes surrénales : hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

La rate : hyperémie, de grands foyers hémorragiques, les follicules sont hypertrophiés. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

Pancréas : forte hyperémie, quelques foyers hémorragiques.

Le foie : hyperémie, hémorragies, légère dégénérescence graisseuse.

Cœur : hyperémie, hémorragies, hyperplasmie très avancée. Légère infiltration avec des mononucléaires.

Les reins : forte hyperémie, des hémorragies interstitielles et au niveau

de la membrane de Bowmann. Lésions dégénératives et nécrotiques. Dans la lumière des tubes on observe un exsudat hémorragique.

Tube digestif : des hémorragies dans la muqueuse.

COBAYE 18 *(690 grammes)*. — Brûlures généralisées de 2e degré, ayant duré 1 1/2 minute. Survit 2 jours. Poids final, 670 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Poumons : congestion, foyers hémorragiques.

La rate : les follicules sont visibles.

L'estomac présente la muqueuse congestionnée avec des foyers hémorragiques. Tous les organes sont congestionnés.

L'examen microscopique a été le suivant :

Les poumons : hyperémie, hémorragies.

Le foie : hyperémie. Dégénérescence graisseuse très forte autour des espaces de Kiernan.

Glandes surrénales : hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

La rate : hyperémie, hypertrophie des follicules qui présentent une hyperplasie de leur centre germinatif. Quelques macrophages avec pigment sanguin.

Cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie. Légère infiltration avec des mononucléaires.

Les reins : hyperémie. Des lésions dégénératives. Dégénérescence granulo-graisseuse fine et diffuse. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumineux contenant des cellules épithéliales nécrosées.

L'estomac présente des hémorragies dans la muqueuse.

COBAYE 20 *(682 grammes)*. — Brûlures généralisées de 2e degré ayant duré 1 minute. 2 séances. Survit 4 jours. Poids final, 581 grammes.

L'examen macroscopique montre :

Les poumons présentent une congestion avec des hémorragies.

Pancréas : très congestionné. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :

Les poumons : hyperémie, petites hémorragies. Dans les alvéoles, un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales.

Le foie : hyperémie et dégénérescence graisseuse très forte.

Glandes suurénales : hyperémie, œdème, les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.

Cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie, œdème, dégénérescence granulo-graisseuse très prononcée, par foyers. Légère infiltration avec des mononucléaires.

Les reins : hyperémie, hémorragies, lésions hémorragiques, nécrotiques et dégénérescence granulo-graisseuse. Dans la lumière des tubes, un exsudat hémorragique avec des cellules épithéliales nécrosées.

La rate : hypertrophie des follicules, hyperémie, petites hémorragies. Quelques macrophages contenant du pigment sanguin.

Pancréas : hémorragie, hyperémie.

COBAYE 28 *(790 grammes)*. — Brûlures généralisées de 2e degré. 2 séances ayant duré 1 minute. Survit 3 jours. Poids final, 690 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Les reins : la corticale très congestionnée avec des foyers hémorragiques.
Glandes surrénales : très congestionnées. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Les poumons : hyperémie. Dans les alvéoles, il y a un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.
La rate : hyperémie. Hypertrophie des follicules et hyperplasie du centre germinatif. De nombreux macrophages avec pigment sanguin.
Glandes surrénales : hyperémie, petites hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
Le cœur : hyperémie, légère hyperplasmie.
Le foie : hyperémie, légère dégénérescence graisseuse.
Les reins : hyperémie très forte ; petites hémorragies. Dans la lumière des tubes un exsudat albumineux avec des épithéliums nécrosés, lésions dégénératives.

Cobaye 29 *(839 grammes)*. — Brûlures généralisées de 2e degré. 2 séances de 1/2 et 1 minute. Survit 3 jours.

L'examen macroscopique montre :
Congestion *des surrénales* qui présentent des points hémorragiques dans la corticale.
Les reins sont très congestionnés. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Les poumons : hyperémie, hémorragies, exsudat albumino-fibrineux dans les alvéoles.
Glandes surrénales : hyperémie, hémorragies, les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.
La rate : hyperémie, les follicules sont hypertrophiés. De nombreux macrophages avec pigment sanguin.
Foie : hyperémie, dégénérescence graisseuse massive.
Cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie. Des foyers de dégénérescence granulo-graisseuse.
Les reins : hyperémie très forte, hémorragies, dans la lumière des tubes un exsudat albumineux et hémorragique contenant des cellules épithéliales nécrosées. Des lésions dégénératives et nécrotiques très avancées. Très forte dégénérescence granulo-graisseuse.

Cobaye 30 *(875 grammes)*. — Brûlures généralisées de 2e degré ayant duré 2 minutes. Séance unique. Survit 2 jours.

L'examen macroscopique montre :
Glandes surrénales : très congestionnées avec des points hémorragiques dans la corticale.
Les reins sont très congestionnés. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
La rate : hyperémie, les follicules sont hypertrophiés. De nombreux macrophages contenant du pigment sanguin.
Glandes surrénales : hyperémie, hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine réduits.
Le foie : hyperémie, petites hémorragies. Dégénérescence graisseuse très prononcée.
Cœur : hyperémie, légère hyperplasmie. Très importante dégénérescence graisseuse par foyers. Infiltration interstitielle avec des mononucléaires.

Les reins : hyperémie très forte. Exsudat albumino-hémorragique très abondant dans la lumière des tubes. Des lésions dégénératives et nécrotiques très avancées. Dégénérescence granulo-graisseuse.

III. — BRULURES DE 3e DEGRÉ

COBAYE 1 *(350 grammes)*. — Brûlure sur une surface de 3/5 centimètres ayant duré 3 minutes. Survit 15 minutes.

L'examen macroscopique montre :
Congestion dans tous les organes. Les poumons présentent des points hémorragiques.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Poumons : hyperémie. Hémorragies. Dans les alvéoles, un exsudat albumineux contenant des cellules endothéliales et des mononucléaires.
Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
Cœur : hyperémie, petites hémorragies, hyperplasmie très importante.
Rate : hyperémie, hémorragies. Dans la pulpe, des foyers nécrotiques.
Reins : hyperémie très forte, hémorragie interstitielle et au niveau de la membrane de Bowmann. Des lésions dégénératives et nécrotiques. Pas de dégénérescence graisseuse. Dans la lumière des tubes, exsudat hémorragique contenant des cellules nécrosées.

COBAYE 4 *(300 grammes)*. — Brûlures de 3e degré. Surface de 4/4 centimètres. 3 séances de 1-3 minutes avec pauses. Survit 7 jours. Poids final, 244 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Poumons : congestion avec des foyers hémorragiques. Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Les poumons : hyperémie, hémorragies.
Foie : hyperémie. Dégénérescence graisseuse très importante.
Cœur : hyperémie, hyperplasmie en foyers. Dégénérescence granulo-graisseuse très fine.
Glandes surrénales : hyperémie. Les lipoïdes et la substance chromaffine très réduites.
La rate : hyperémie, hémorragies. Très rares macrophages avec pigment sanguin.
Les reins : hyperémie très importante, hémorragies. Lésions dégénératives et nécrotiques. Dégénérescence granulo-graisseuse forte. Dans la lumière des tubes, exsudat albumineux contenant des cellules nécrosées.

COBAYE 5 *(360 grammes)*. — Brûlures de 3e degré. Surface de 8/8 centimètres. 2 séances de 1/2 minute, avec des pauses. Survit 4 jours. Poids final, 300 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Poumons : congestion. Des foyers hémorragiques (lentille). Des hémorragies au niveau des plèvres et du péricarde.

Glandes surrénales : légèrement hypertrophiées. Congestion.
Les reins : hypertrophiés, congestion avec des points hémorragiques dans la corticale. Tous les organes sont congestionnés.

L'examen microscopique a été le suivant :
Poumons : hyperémie, hémorragies.
Glandes surrénales : hyperémie, de petites hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
La rate : hyperémie, hémorragies. Hypertrophie des follicules. Quelques macrophages avec pigment sanguin.
Cœur : hyperémie, foyers d'hyperplasmie. Dégénérescence granulo-graisseuse diffuse très importante.
Foie : hyperémie, petites hémorragies. Dégénérescence granulo-graisseuse très forte et diffuse.
Les reins : hyperémie très importante, hémorragies, exsudat albumineux et hémorragique dans la lumière des tubes. Des lésions dégénératives très avancées, des zones nécrotiques et dégénérescence granulo-gaisseuse diffuse très forte.

Cobaye 6 *(300 grammes)*. — Brûlures de 3e degré. Surface de 3/5 centimètres. Séance unique ayant duré 5 minutes avec des pauses. Survit 15 heures.

L'examen macroscopique montre :
Poumons : congestion, foyers hémorragiques, des hémorragies dans les plèvres.
Glandes surrénales : légèrement hypertrophiées, congestion.
Les reins : hypertrophiés, congestion, foyers hémorragiques dans la corticale. Congestion dans tous les organes.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Poumons : hyperémie, hémorragies punctiformes, hyperplasmie très importante. Quelques fibres avec dégénérescence cireuse. Dégénérescence graisseuse diffuse.
Glandes surrénales : hyperémie, hémorragies. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.
La rate : hyperémie, quelques macrophages avec pigment sanguin.
Foie : hyperémie très importante, hémorragies, dégénérescence granulo-graisseuse avancée.
Reins : hyperémie très forte, hémorragies interstitielles et au niveau de la membrane de Bowmann. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumino-hémorragique et des cellules nécrosées. Des lésions dégénératives très avancées, dégénérescence granulo-graisseuse diffuse, massive; zones nécrotiques.

Cobaye 23 *(910 grammes)*. — Brûlures de 3e degré. Surface de 6/4 centimètres. 4 séances de 1-1 1/2 minute. Survit 7 jours. Poids final, 800 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Cœur : congestion avec des points hémorragiques.
Les reins sont hypertrophiés, congestion, hémorragies punctiformes au niveau de la corticale.
Glandes surrénales : très volumineuses, surtout celle du côté gauche. Chacune présente un foyer hémorragique au niveau de la corticale (lentille). Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Poumons : hyperémie, hémorragies punctiformes.
Glandes surrénales : hyperémie, hémorragies, œdème très important. Des foyers dégénératifs très avancés, des zones nécrotiques. Les lipoïdes sont conservés, la substance chromaffine est augmentée.
La rate : hyperémie, de nombreux macrophages contenant du pigment sanguin.
Le foie : hyperémie, dégénérescence graisseuse très prononcée.
Cœur : hyperémie, hyperplasmie, dégénérescence granulo-graisseuse en placards.
Reins : hyperémie très forte, hémorragies interstitielles et au niveau des glomérules. Dans la lumière des tubes, un exsudat albumino-hémorragique et des cellules nécrosées. Des lésions dégénératives et nécrotiques. Une importante dégénérescence granulo-graisseuse.

Cobaye 27 *(690 grammes)*. — Brûlures généralisées de 3e degré, ayant duré 5 minutes avec des pauses. Survit 12 heures.

L'examen macroscopique montre :
Estomac : la muqueuse est congestionnée et présente des zones hémorragiques.
La rate : les follicules sont visibles.
Le pancréas, les reins et les glandes surrénales sont fortement congestionnés.
Congestion dans tous les autres organes.

Nous trouvons à l'examen microscopique :
Poumons : hyperémie, petites hémorragies. Dans les alvéoles, un exsudat albumineux englobant des cellules endothéliales.
Rate : hyperémie, de grandes hémorragies. Hypertrophie remarquable des follicules, hyperplasie du centre germinatif. Quelques macrophages au pigment sanguin.
Glandes surrénales : hyperémie, petites hémorragies et œdème de la médullaire. Les lipoïdes et la substance chromaffine sont réduits.
Cœur : hyperémie, hémorragies, hyperplasmie très avancée.
Les reins : hyperémie très prononcée, hémorragies interstitielles et au niveau des glomérules. Dans la lumière des tubes, exsudat albumineux et hémorragique contenant des cellules nécrosées. Des lésions dégénératives et nécrotiques.
Estomac : hyperémie, hémorragies au niveau de la muqueuse et de la sous-muqueuse.
Pancréas : hyperémie, hémorragies.

Cobaye 16 *(548 grammes)*. — On brûle le membre postérieur gauche pendant 4 minutes. Après 2 jours, on fait la même opération sur le pied droit pendant 2 minutes. Survit 4 jours. Poids final, 485 grammes.

L'examen macroscopique montre :
Poumons : congestion, hémorragies.
Les reins : légèrement hypertrophiés, congestion.
Pancréas : fortement congestionné.
Tous les organes sont congestionnés.

Nous trouvons à l'examen microscopique.
Poumons : hyperémie, hémorragies punctiformes.

Foie : hyperémie, petites hémorragies, dégénérescence graisseuse très importante.

Glandes surrénales : hyperémie, les lipoïdes et la substance chromaffine sont conservés.

La rate : hyperémie, petites hémorragies, quelques macrophages avec pigment sanguin. Dans la pulpe : réaction myéloïde.

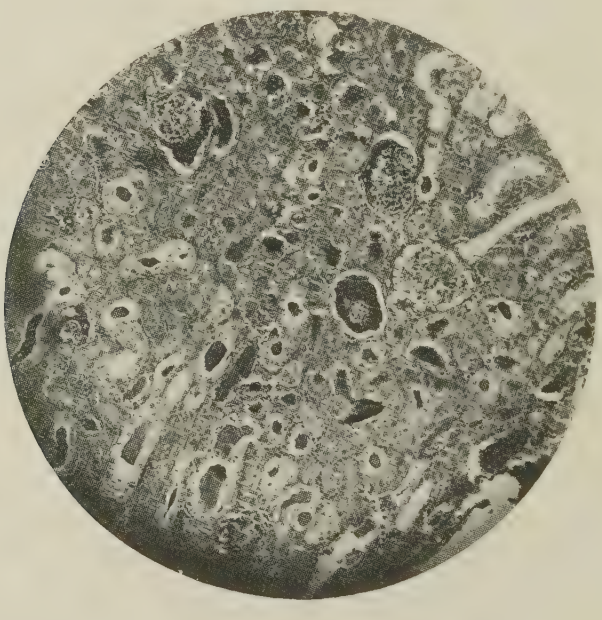


Fig. 1.

Cœur : hyperémie, hyperplasmie, des placards de dégénérescence graisseuse, légère infiltration interstitielle avec mononucléaires.

Les reins : forte hyperémie, lésions hémorragiques et dégénératives. Dégénérescence granulo-graisseuse diffuse. Dans la lumière des tubes un exsudat albumineux contenant des cellules épithéliales nécrosées.

TÉMOINS

Cobaye 22. — Tué par ponction du bulbe et exposé ensuite à la flamme jusqu'à l'apparition des phlyctènes.

Tous les organes sont hyperémiés. Quelques hémorragies dans les surrénales. Légère dégénérescence graisseuse du foie.

Cobaye 21. — Tué par ponction du bulbe.

Hyperémie dans tous les organes.

*
**

Nous voyons, par conséquent, que chez les cobayes exposés à la flamme, les lésions plus profondes se trouvent toujours au

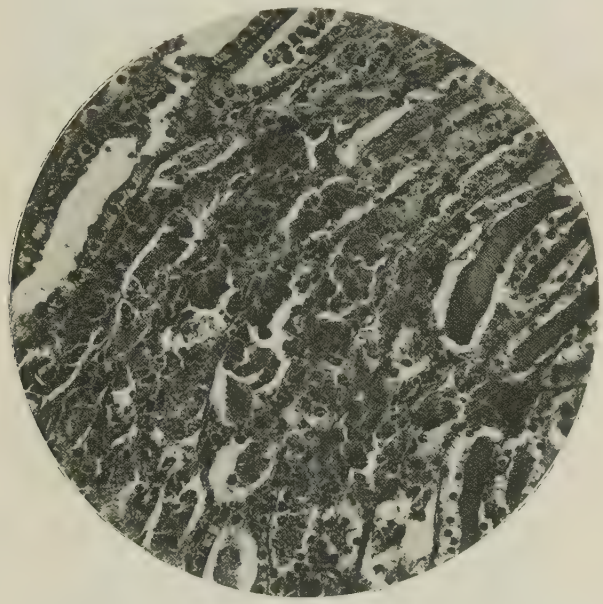


Fig. 2.

niveau des *reins*. Nous avons trouvé ces organes presque toujours hypertrophiés, fortement congestionnés, jusqu'à la cyanose, surtout la corticale qui était aussi le siège d'hémorragies pupctiformes. Au microscope on remarque une importante dilatation vasculaire surtout au niveau du peloton glomérulaire. Des hémorragies interstitielles plus ou moins importantes, des hémorragies au niveau de la membrane de Bowmann, et quelquefois même un exsudat albumineux (fig. 1). L'épithélium de revêtement des tubes, surtout celui des tubes contorts, présente des lésions dégénératives : intumescence, dégénérescence granulaire, réticulaire, vacuolaire (fig. 2), graisseuse (fig. 3). Dans la lumière des tubes, nous trouvons un exsudat albumineux ou hémorragique,

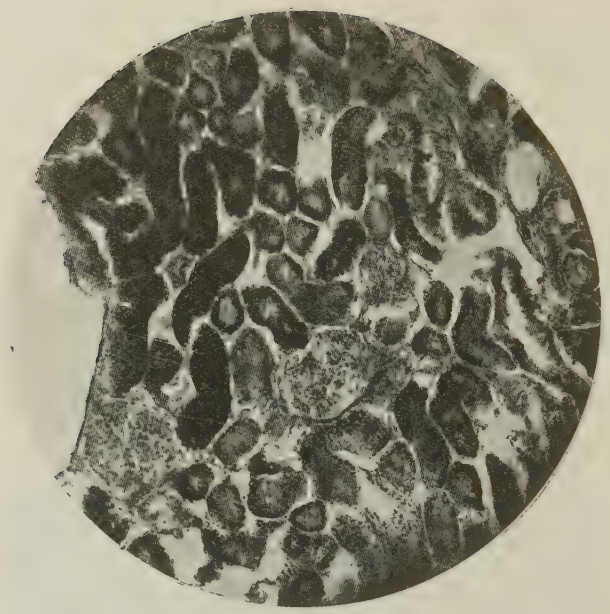


Fig. 3.

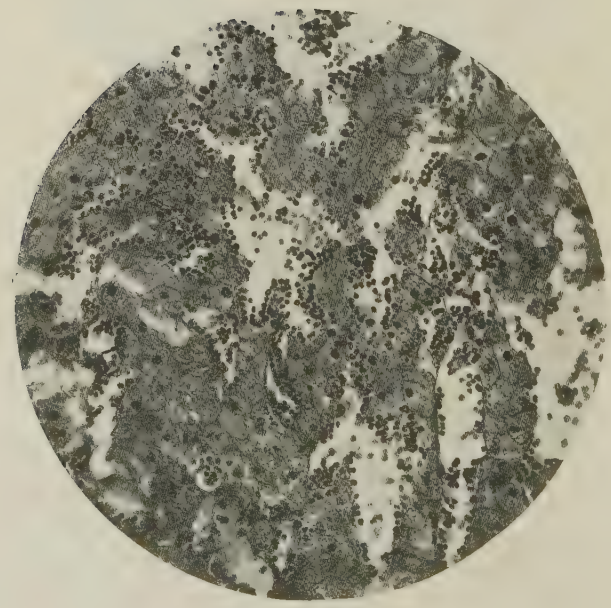


Fig. 4.

des globules rouges, des épithéliums desquamés et nécrosés (fig 2).

Ces aspects sont toujours plus nets dans les brûlures de 2e et de 3e degré. Font exception : 1° un cobaye (n° 1) qui meurt après 1/4 d'heure, et chez lequel les lésions dégénératives étaient minimes et la dégénérescence graisseuse manquait complètement, et 2° le cobaye n° 15, qui meurt après 3/4 d'heure et qui ne pré-

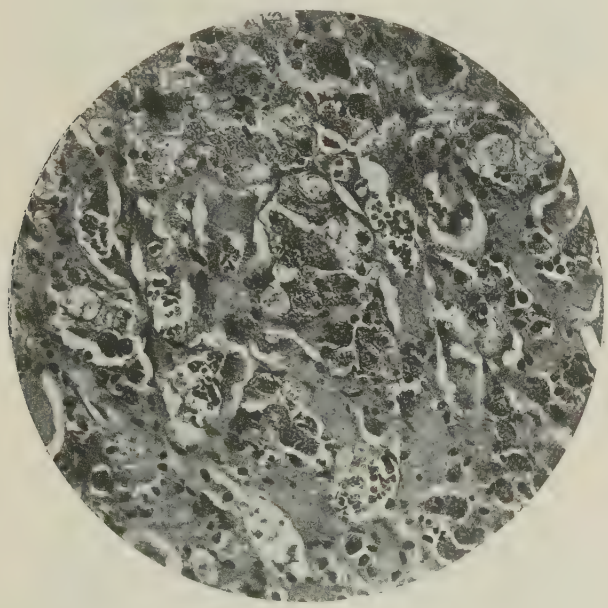


Fig. 5.

sentait que des lésions dégénératives minimes. Même les animaux qui ne survivaient que 12-15 heures (11, 6, 29) présentaient des lésions dégénératives et une dégénérescence graisseuse très prononcée.

Les aspects que nous avons décrits seraient ceux des néphroses (néphrites hémorragiques dégénératives). Ils sont semblables à ceux produits par les substances toxiques d'origine animale, minérale ou microbienne.

Les lésions de néphrose sont dues certainement aux substances

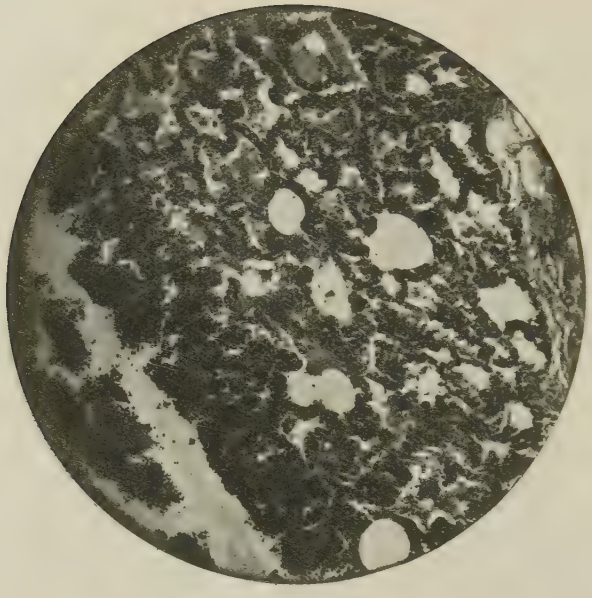


Fig. 6.

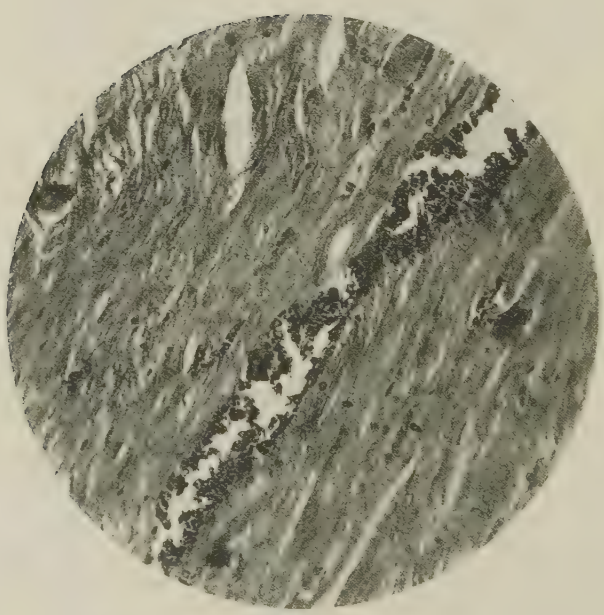


Fig. 7.

toxiques qui se forment au niveau des tisssus brûlés, et qui passent dans la circulation et sont éliminés par les reins.

Les lésions que nous avons trouvées au niveau des reins peuvent expliquer la mort, même si elle survient quelques heures après l'accident (12-15 heures).

Les lésions des *glandes surrénales,* décrites par nos précurseurs comme les plus importantes, dans les conditions de nos

Fig. 8.

expériences ont été beaucoup plus discrètes et ont moins de valeur dans l'explication de la mort.

Dans tous les cas, les surrénales étaient hyperémiées et, dans la moitié des cas, on voyait des hémorragies microscopiques.

Ces lésions ne peuvent expliquer la mort, car on les trouve dans la majorité des cas de mort où il y a hyperémie des organes. Elles ont été interprétées même comme dues à la stase cadavérique.

Nous avons trouvé les mêmes hémorragies chez le témoin brûlé après avoir été tué.

En ce qui concerne les lipoïdes, nous ne pourrions faire une

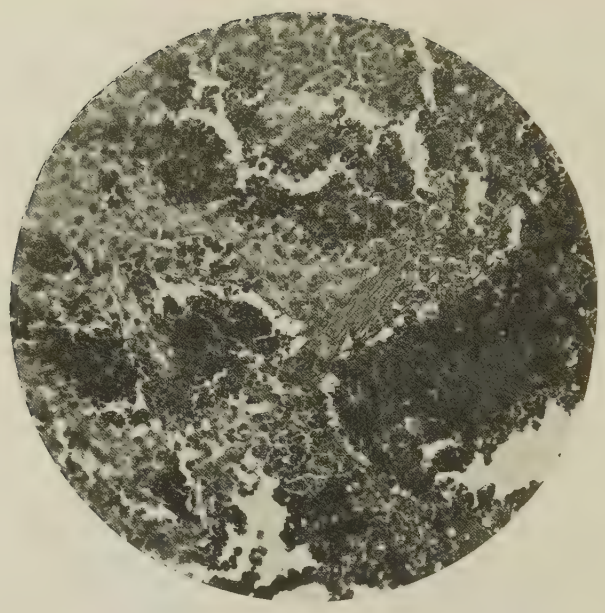


Fig. 9.

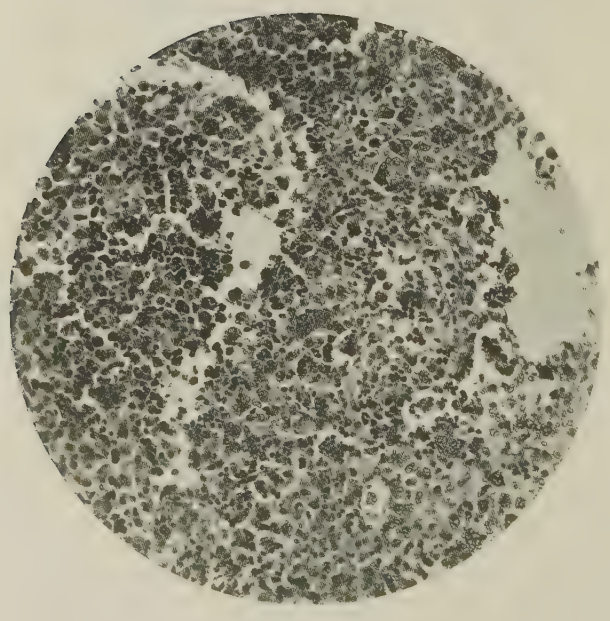


Fig. 10.

affirmation catégorique, car parmi nos 28 cas, dans 10, les lipoïdes étaient réduits, et dans 18, ils étaient conservés. La substance chromaffine a le sort des lipoïdes et leurs variations étaient parallèles sauf pour deux cobayes (26, 23) chez lesquels la substance chromaffine était augmentée.

Dans deux cas (24, 23), nous avons trouvé au niveau des glandes surrénales de grands foyers hémorragiques (fig. 4) (lentilles) semblables à ceux décrits chez l'homme. Ils étaient accom-

Fig. 11.

pagnés par des lésions dégénératives, des nécroses et de l'œdème (fig. 5).

Les poumons sont toujours congestionnés. Très souvent l'on rencontre des foyers hémorragiques macroscopiques et microscopiques entourés par des lésions exsudatives qui prennent souvent un aspect inflammatoire (fig. 6).

Le cœur présente toujours de l'hyperémie, quelquefois même très importante. Les vaisseaux sont dilatés et il y a des hémorragies interstitielles (fig. 7). La cellule cardiaque est toujours atteinte par une hyperplasmie plus ou moins prononcée qui

atteint quelquefois tout le myocarde, ou bien n'intéresse que des zones limitées. Dans la majorité des cas, l'hyperplasmie est associée aux lésions dégénératives : dégénérescence granulo-graisseuse très fine (fig. 8), sauf les cas où la mort a été rapide et où les lésions dégénératives manquent complètement. Naturellement, les lésions dégénératives sont plus appréciables dans les brûlures de 2e et de 3e degré. Ces lésions peuvent suffisam-

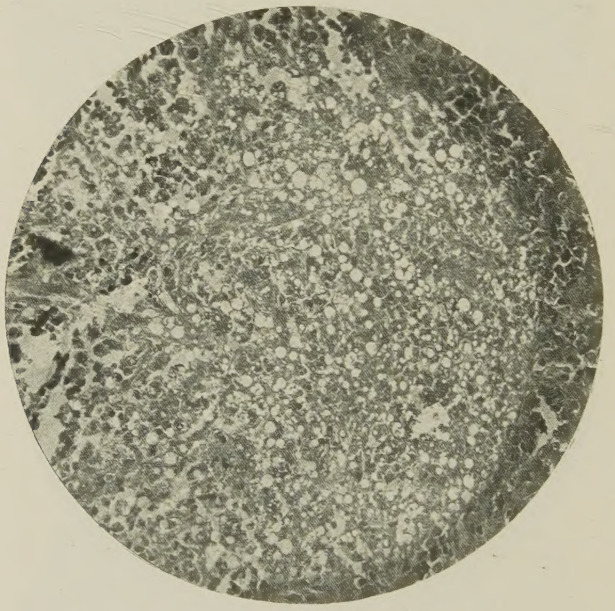


Fig. 12.

ment expliquer la mort, si elle survient très vite, avant que le rein soit intéressé.

La rate, comme tous les organes, présente une hyperémie très forte, accompagnée dans la majorité des cas par des hémorragies plus ou moins prononcées (fig. 9). Les follicules sont toujours hypertrophiées et leur centre germinatif est hyperplasié quelquefois.

Dans 12 cas sur 28, nous avons trouvé de nombreux macrophages contenant du pigment sanguin (hématoïdine et hémosidérine (fig. 10). Il s'agissait surtout d'animaux ayant subi des brûlures de 1er degré (8 sur 9), rarement dans le 2e degré

(3 sur 12) et exceptionnellement dans les brûlures de 3e degré (1 sur 7). Chez les animaux qui meurent avant 24 heures, on ne trouve pas de pigment sanguin.

Nous avons trouvé, une seule fois, une réaction myéloïde de la rate chez le cobaye dont nous avions brûlé les membres postérieurs.

Le foie présente la même hyperémie que l'on trouve dans tous les organes, quelquefois elle est accompagnée par des hémorragies interstitielles (fig. 11), et dans la majorité des cas par des lésions de dégénérescence graisseuse de la cellule hépatique (fig. 12).

Ces dernières lésions sont plus nettes dans les brûlures de 2e et de 3e degré.

Le tube digestif présente toujours une forte hyperémie de la muqueuse accompagnée parfois par des lésions hémorragiques plus ou moins fortes, surtout au niveau de l'estomac (11 cas), plus rarement au niveau du gros intestin (3 cas dont 2 avec ulcérations). Ces lésions sont plus fréquentes dans les brûlures de 1er et de 2e degré.

Le pancréas était hyperémié dans 4 cas et présentait des hémorragies interstitielles.

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN